

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Abgesandt: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

18. Aug. 2000

PCT

An:

Hertz, Oliver
VON BEZOLD & SOZIER
Akademiestrasse 7
D-80799 München
ALLEMAGNE

EINGEGANGEN

19. Mai 2000

v. Bezold & Sozien

SCHRIFTLICHER BESCHIED
(Regel 66 PCT)

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr)

18.05.2000

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts

14839/PCT Ri

ANTWORT FÄLLIG innerhalb von **3 Monat(en)**
ab obigem Absendedatum

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP99/04470

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)

28/06/1999

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)

26/06/1998

Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK

B03C5/02

Anmelder

EVOTEC BIOSYSTEMS AG et al.

1. Dieser Bescheid ist der **erste** schriftliche Bescheid der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde

2. Dieser Bescheid enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Bescheides
- II ☐ Priorität
- III ☒ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

3. Der Anmelder wird **aufgefordert**, zu diesem Bescheid **Stellung zu nehmen**

Wann? Siehe oben genannte Frist. Der Anmelder kann vor Ablauf dieser Frist bei der Behörde eine Verlängerung beantragen, siehe Regel 66.2 d).

Wie? Durch Einreichung einer schriftlichen Stellungnahme und gegebenenfalls von Änderungen nach Regel 66.3. Zu Form und Sprache der Änderungen, siehe Regeln 66.8 und 66.9.

Dazu: Hinsichtlich einer zusätzlichen Möglichkeit zur Einreichung von Änderungen, siehe Regel 66.4. Hinsichtlich der Verpflichtung des Prüfers, Änderungen und/oder Gegenvorstellungen zu berücksichtigen, siehe Regel 66.4 bis. Hinsichtlich einer formlosen Erörterung mit dem Prüfer, siehe Regel 66.6.

Wird keine Stellungnahme eingereicht, so wird der internationale vorläufige Prüfungsbericht auf der Grundlage dieses Bescheides erstellt.

4. Der Tag, an dem der internationale vorläufige Prüfungsbericht gemäß Regel 69.2 spätestens erstellt sein muß, ist der: 26/10/2000.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde:



Europäisches Patentamt
D-80298 München
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter / Prüfer

Koob, M

Formalsachbearbeiter (einschl. Fristverlängerung)

Riebel, O

Tel. +49 89 2399 2967



THIS PAGE BLANK (USPTO)

I. Grundlag des Bescheids

1. Dieser Bescheid wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Bescheids als "ursprünglich eingereicht".*):

Beschreibung, Seiten:

1-39 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-20 eingegangen am 25/04/2000 mit Schreiben vom 25/04/2000

Zeichnungen, Blätter:

1/14-14/14 ursprüngliche Fassung

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

3. Dieser Bescheid ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

Folgende Teile der Anmeldung wurden und werden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- ☐ die gesamte internationale Anmeldung,
- ☒ Ansprüche Nr. 5, 15-18.

Begründung:

- ☐ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- ☒ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie bitte nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. 5, 15-18 sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):

siehe Beiblatt

- ☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.
- ☐ Für die obengenannten Ansprüche Nr. wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.

V. Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

| | | |
|--------------------------------|-----------|-------------------|
| Neuheit (N) | Ansprüche | 1 |
| Erfinderische Tätigkeit (IS) | Ansprüche | 1-4, 6-14, 19, 20 |
| Gewerbliche Anwendbarkeit (IA) | Ansprüche | |

2. Unterlagen und Erklärungen:

siehe Beiblatt

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:

siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:

siehe Beiblatt

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Es wird auf das folgende Dokument verwiesen:

- D1: FIEDLER S ET AL: 'DIELECTROPHORETIC SORTING OF PARTICLES AND CELLS IN A MICROSYSTEM' ANALYTICAL CHEMISTRY, Bd. 70, Nr. 9, 1. Mai 1998 (1998-05-01), Seiten 1909-1915, XP000755524 ISSN: 0003-2700
- D2: DE 195 00 660 A

III. Keine Erstellung eines Gutachtens

Siehe Punkte VIII.3+5-7 sowie V.3.1+7.

V. Begründete Feststellung

1.1 Der Gegenstand der ersten Alternative mit vorbestimmtem Winkel des **Anspruchs 1** ist, insofern er verstanden werden kann, in **D1** offenbart und damit nicht neu (Artikel 33(2) PCT):

- Mikrosystem zur dielektrophoretischen Manipulation von Partikeln (Seite 1909, Überschrift) in einer Suspensionsflüssigkeit (Seite 1909, Spalte 1, Zeilen 10-11) in einem Kanal (Seite 1909, Spalte 1, Zeile 9)
 - mindestens eine Mikroelektrode an einer seitlichen Wand* angeordnet (Seite 1911, Spalte 2, Zeilen 6-10)
- Mikroelektrode besitzt einen vorbestimmten Winkel (Seite 1912, Spalte 1, Zeilen 5-6)

* Als "seitliche Wand" werden alle vier den Kanal begrenzenden Flächen interpretiert. Sollte der Anmelder dem Ausdruck eine andere Bedeutung geben wollen (z.B. Seite 1, Zeilen 13-17), wäre dies im Anspruch (vgl. **Anspruch 12**) klar zu definieren (siehe PCT-Richtlinien III-4.2).

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 1.2** Die zweite Alternative des **Anspruchs 1**, die vorbestimmte Krümmung, wird außerdem als nicht erfinderisch angesehen (Artikel 33(3) PCT).

Gerade, gekrümmte, abgewinkelte oder unterbrochene Elektroden sind Elektroden mit allgemein bekannter Geometrie, die der erfahrene Mann der Praxis in Betracht ziehen und auf die er durch routinemäßige Erprobung oder Anwendung normaler zeichnerischer Verfahren gelangen würde. Alleine durch die Krümmung der Elektrode ist noch keine unerwartete Wirkung erkennbar.

- 2.** Der Gegenstand der **Ansprüche 2-4** ist nicht erfinderisch (Artikel 33(3) PCT).

Der Gegenstand des **Anspruchs 2** ist nicht erfinderisch da mindestens zwei an gegenüberliegenden Kanalwänden angebrachte Mikroelektroden gleicher Gestalt und Ausrichtung aus **D1** bekannt (Seite 1911, Spalte 2, Zeilen 5-7) sind und die Form eines gekrümmten Bandes naheliegend (siehe Punkt 1.2) ist.

Die Strömungsverhältnisse in einem Kanal sind allgemein bekannt. Der Gegenstand des **Anspruchs 3** besteht, insofern er verstanden werden kann (siehe VIII.3), lediglich aus der Formulierung der mathematischen Bedingung für die Ablenkung der Teilchen im Kanal, die für den Fachmann naheliegend ist.

Fokussierelektroden zur Bildung eines Partikeltrichters sind aus **D1**, Abbildung 2A mit zugehöriger Beschreibung Zeilen 1-4 zum selben Zweck bekannt und damit der Gegenstand des **Anspruchs 4** naheliegend.

- 3.1** Aufgrund der unklaren Formulierung des **Anspruchs 5** (siehe Punkt VIII.3) ist eine Prüfung auf das Vorliegen einer erfinderischen Tätigkeit nicht möglich.

- 3.2** Ein klargestellter **Anspruch 6** könnte neu und erfinderisch sein.

Die zu lösende technische Aufgabe wäre die Trennung von suspendierten Teilchen mit verschiedenen passiven elektrischen Eigenschaften nach ihren Eigenschaften an Elektroden mit permanenten hochfrequenten elektrischen Wechselfeldern.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Im Stand der Technik **D1** wird die Trennung durch aktives Schalten von hochfrequenten elektrischen Wechselfeldern erzielt (**D1**, Seite 1915, Spalte 1, Zeile 14-15).

Durch die Kombination aus permanentem hochfrequenten elektrischen Wechselfeld mit erfindungsgemäß gekrümmten Elektroden wird die Trennung aufgrund deren funktioneller Wechselwirkung durchgeführt.

4. Der Gegenstand der **Ansprüche 7-9** ist nicht erfinderisch (Artikel 33(3) PCT).

Offene Winkelabschnitte sind z.B. aus **D1**, Abbildung 3A in Form eines Trichters bekannt um die Partikel auf einen bestimmten Punkt zu zentrieren. Es ist für den Fachmann naheliegend, den Spalt des offenen Winkelabschnitts zu schließen, um die Partikel in dem Trichter festzulegen. Eine Kombination aus mehreren derartiger geschlossener Winkelabschnitte ist eine Aneinanderreihung dieser geschlossenen Winkelabschnitte ohne erfinderische funktionelle Wechselwirkung.

5. Paarweise auf den Boden- und Deckflächen eines Kanals angeordnete Mikroelektroden sind aus **D1**, Seite 1911, Spalte 2, Zeilen 5-7 bekannt weshalb der Gegenstand des **Anspruchs 10** nicht neu ist.

6. Der Gegenstand der **Ansprüche 11-14** scheint, insofern er verstanden werden kann, nicht erfinderisch zu sein (Artikel 33(3) PCT).

- 6.1 Für den Fachmann ist es naheliegend, daß durch Verwendung von zwei Elektroden mit verschiedenen Geometrie (**Anspruch 11**) eine asymmetrische Feldbarriere entsteht (vgl. Seite 23 oben). Durch die asymmetrische Feldbarriere alleine ist aber noch kein neuer technischer Effekt erkennbar.

- 6.2 Aus der Beschreibung der vorliegenden Anmeldung Seite 24, letzter Absatz geht hervor, daß die flächige Elektrode auch erdfrei geschaltet oder ganz weggelassen werden kann. Damit scheint die zweite Elektrode gar nicht wesentlich für die Erreichung des Trennungseffektes von Teilchen mit stärkerer und schwächerer Polarisierbarkeit zu sein. Da somit keine erfinderische funktionelle Wechselwirkung zwischen beiden Elektroden besteht ist deren Kombination naheliegend und **Anspruch 12 und 13** nicht erfinderisch.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Im Dokument **D2** ist die Bewegung mikroskopischer Teilchen und ihre Separation (**D2**, Spalte 2, Zeilen 10-11) in einem Ausführungsbeispiel durch Verwendung einer einzigen Elektrode (**D2**, Spalte 2, Zeile 17) bereits beschrieben.

Die Anordnung der Elektroden an den schmalen Seitenflächen ist eine Alternative zu der aus **D1** bekannten Anordnung an den breiten Seitenflächen ohne das dadurch eine unerwartete Wirkung erreicht wird und somit für den Fachmann naheliegend.

- 6.3 Die Trennung des Kanales in zwei Teilkanäle mittels einer Trennwand, die eine Öffnung besitzt entspricht dem Können eines Fachmanns und ist ohne erfinderischen Gehalt (**Anspruch 14**).
7. Aufgrund der unklaren Formulierung der **Ansprüche 15-18** (siehe Punkt VIII.5-7) ist eine Prüfung auf das Vorliegen einer erfinderischen Tätigkeit nicht möglich.
8. Der Gegenstand der **Ansprüche 19 und 20** würden den Erfordernissen des PCT in Bezug auf Neuheit und erfinderisch Tätigkeit genügen, wenn die voranstehenden Ansprüche diesen genügen würden.

VII. Bestimmte Mängel

1. Die in den Ansprüchen genannten technischen Merkmale sind nicht mit in Klammern gesetzten Bezugszeichen versehen (Regel 6.2(b) PCT).
2. Um die Erfordernisse der Regel 5.1(a)(ii) PCT zu erfüllen, ist in der Beschreibung das Dokument **D1** zu nennen, der darin enthaltene einschlägige Stand der Technik sollte kurz umrissen werden.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

VIII. Bestimmt Bemerkung n

1. In **Anspruch 1** ist durch die Formulierung "Elektrodenanordnung in einem Mikrosystem" unklar (Artikel 6 PCT), ob der angestrebte Patentschutz auf die Elektrodenanordnung beschränkt ist oder ob ein Mikrosystem mit einer Elektrodenanordnung geschützt werden soll.
Eine Formulierung wie "Mikrosystem mit einer Elektrodenanordnung; wobei das Mikrosystem zur ..." ("wobei" in Zeile 4 durch "und" ersetzt; folgende Ansprüche entsprechend angepaßt) würde diesen Einwand beheben.
2. Der Gegenstand des **Anspruchs 1** verletzt Artikel 6 PCT da der Zusammenhang zwischen der "Bezugsfläche" zu der "Mikroelektrode" bzw der "Feldbarriere" unklar ist.

Wenn gemäß Präambel des **Anspruchs 1** eine Mikroelektrode in der Art angeordnet sein soll, daß eine Feldbarriere entlang einer (vorgegebenen?) Bezugsfläche erzeugt wird, dann fehlt die Information, wie die Mikroelektrode angeordnet sein muß.

Durch die Formulierung des kennzeichnenden Teils scheint aber die Bezugsfläche durch die Form der Mikroelektrode definiert zu sein, was im Widerspruch zur Präambel steht.

Laut Beschreibung Seite 3, Zeilen 24-29 wird "mit dem Begriff Bezugsfläche ... ein Raumbereich ..." bezeichnet, "... in dem die Feldbarriere ... ausgebildet ist". Damit scheinen "Bezugsfläche" und "Feldbarrieren" identisch zu sein.

3. Der Gegenstand der **Ansprüche 3 und 5** ist unklar (Artikel 6 PCT).
- 3.1 Aus der Formulierung der Ansprüche ist nicht ersichtlich, um welche "auf ein Teilchen wirkende resultierende Kraft" es sich handelt (siehe Seite 13, Zeilen 3-9). Die Komponenten der resultierenden Kraft sollten im Anspruch eindeutig definiert sein (siehe PCT-Richtlinien III-4.2).

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 3.2** Desweiteren hängen die Kräfte selbst, die die resultierende Kraft bilden, von Faktoren ab, die in den Ansprüchen nicht definiert sind, beispielsweise Frequenz und Amplitude des Feldes, passive elektrische Eigenschaften und Größe der Partikel, Leitfähigkeit und Viskosität der Suspensionsflüssigkeit. Es scheinen wesentliche Merkmale im Anspruch zu fehlen, die zur Definition der Erfindung notwendig sind (siehe PCT-Richtlinien III-4.4).
- 3.3** Außerdem ist es dem Fachmann bei Vorliegen einer Anordnung von gekrümmten Elektroden in einem Mikrosystem unmöglich ohne unzumutbare Experimente festzustellen, ob die Richtung der resultierenden Kraft in eine bestimmte Richtung weist und damit die Elektroden erfindungsgemäß sind oder nicht (siehe PCT-Richtlinien III-4.7).
- 3.4** Es ist unklar, in welche Richtung die resultierende Kraft zeigen muß. Die Formulierungen "in einen Bereich ... der stromaufwärts in Bezug auf die Mikroelektrode" bzw. "in Bezug auf die Mikroelektrode stromabwärts/-aufwärts gelegenen Bereich" stellen keine eindeutige Definition der Richtung dar.
- 3.5** Bei der Definition der Richtungsänderung scheint es wesentlich zu sein, von welchem Ende der Mikroelektrode bei der Festlegung der Richtungsänderung ausgegangen wird.
- 4.** Die Merkmale der **Ansprüche 11 und 12**, daß "Mikroelektroden eine vorbestimmte Krümmung oder vorbestimmte Winkel in Bezug auf die Strömungsrichtung im Kanal" (Abhängigkeit von **Anspruch 1**) und "verschiedene geometrische Formen" (**Anspruch 11**) bzw eine "flächige" und eine "bandförmige" Form (**Anspruch 12**) besitzen, wird weder in der Beschreibung genannt noch ist es aus den Zeichnungen ersichtlich. Die **Ansprüche 11 und 12** sind daher nicht, wie in Artikel 6 PCT vorgeschrieben, von der Beschreibung gestützt.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

5. Der Gegenstand des **Anspruchs 15** ist unklar (Artikel 6 PCT), da die drei Elektroden lediglich durch die Bezeichnungen "Fokussierelektrode" und "Hilfselektrode" beschrieben sind womit nur die beabsichtigte Funktion angegeben ist aber die Elektroden selbst nicht ausreichend genau definiert sind (siehe PCT-Richtlinien III-4.7).
6. Der Gegenstand der **Ansprüche 17 und 18** betrifft quaderförmige Elektroden, die im allgemeinen keine bevorzugte Richtung haben. Die Ansprüche sind abhängig von **Anspruch 1**, wonach die "Mikroelektrode eine vorbestimmte Krümmung oder vorbestimmte Winkel in Bezug auf die Strömungsrichtung im Kanal besitzt". Da Quader nicht gekrümmt sind und ohne bevorzugte Richtung kein Winkel definiert werden kann, sind die Ansprüche unklar (Artikel 6 PCT). Außerdem sind die Ansprüche nicht, wie in Artikel 6 PCT vorgeschrieben, von der Beschreibung gestützt.
7. In den **Ansprüchen 17 und 18** ist unklar (Artikel 6 PCT), wie die Ablenkelektrode auf der gegenüberliegenden Kanalwand ausgebildet sein muß. Außerdem ist in **Anspruch 17** unklar, wie die Ablenkelektrode auf der gegenüberliegenden Kanalwand mit der quaderförmigen Sammelelektrode zusammenwirkt.

THIS PAGE BLANK (USPTO)



✉ EPA/EPO/OEB
D-80298 München
☎ +49 89 2399-0
TX 523 656 epmu d
FAX +49 89 2399-4465

Europäisches
Patentamt

Generaldirektion 2

European
Patent Office

Directorate General 2

Offic européen
des brevets

Direction Générale 2

Schriftverkehr mit dem EPA bei PCT Kapitel II Anträgen

Um sicherzustellen, daß Ihr PCT Kapitel II Antrag so rasch wie möglich behandelt werden kann, werden Sie gebeten die beigefügten Klebeschilder bei allen an das EPA München gerichteten Schriftstücken zu verwenden.

Eines dieser Klebeschilder sollte an gut erkennbarer Stelle am oberen Rand der Titelseite des jeweiligen Schreibens angebracht werden.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

23. März 2000

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:

Hertz, Oliver
VON BEZOLD & SOZIER
Akademiestrasse 7
D-80799 München
ALLEMAGNE

EINGEGANGEN

24. März 2000

v. Bezold & Sozien

PCT

AUFFORDERUNG ZUR EINSCHRÄNKUNG
DER ANSPRÜCHE ODER ZUR ZAHLUNG
ZUSÄTZLICHER GEBÜHREN

(Artikel 34 (3) a) und Regel 68.2 PCT)

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr)

23. 03. 00

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts
14839/PCT Ri

ANTWORT FÄLLIG innerhalb von 2 Monat(en)
ab obigem Absendedatum

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP99/04470

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)
28/06/1999

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)
26/06/1998

Internationale Patentklassifikation (IPC) oder nationale Klassifikation und IPC
B03C5/02

Anmelder

EVOTEC BIOSYSTEMS AG et al.

1. Die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde

- (i) ist der Auffassung, dass die internationale Anmeldung dem Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung aus den im Anhang angegebenen Gründen nicht genügt (Regel 13.1, 13.2 und 13.3).
- (ii) ist der Auffassung, dass mit der internationalen Anmeldung 2 Erfindungen beansprucht werden (siehe Anhang).
- (iii) weist darauf hin, dass sich die internationale vorläufige Prüfung nicht auf Ansprüche erstrecken muss, die sich auf Erfindungen beziehen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt worden ist (Regel 66.1 e)).

2. Der Anmelder wird daher aufgefordert, die Ansprüche innerhalb der oben genannten Frist einzuschränken, wie unter Punkt 3 unten vorgeschlagen, oder den nachstehend angegebenen Betrag zu bezahlen:

$$\frac{\text{EUR 1533}}{\text{Gebühr pro zusätzliche Erfindung}} \times \frac{1}{\text{Zahl der zusätzlichen Erfindungen}} = \frac{\text{EUR 1533}}{\text{Gesamtbetrag der zusätzlichen Gebühren}}$$

Der Anmelder wird draufhingewiesen, dass gemäss Regel 68.3 c) die Zahlung zusätzlicher Gebühren unter Widerspruch erfolgen kann; dem Widerspruch ist eine Begründung des Inhalts beizufügen, dass die internationale Anmeldung das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung erfülle oder dass der Betrag der geforderten zusätzlichen Gebühr überhöht sei.

- 3. Falls sich der Anmelder für eine Einschränkung der Ansprüche entscheidet, schlägt die Behörde die im Anhang angegeben Einschränkungsmöglichkeiten vor, die nach ihrer Auffassung dem Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung genügen.
- 4. Geht keine Erwiderung des Anmelders ein, so erstellt die Behörde den internationalen vorläufigen Prüfungsbericht über die im Anhang angegebenen Teile der internationalen Anmeldung, die sich nach ihrer Auffassung auf die Haupterfindung zu beziehen scheinen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde



Europäisches Patentamt
D-80298 München
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter

Koob, M

Tel. +49 89 2399-2080



THIS PAGE BLANK (USPTO)

**AUFFORDERUNG ZUR EINSCHRÄNKUNG
DER ANSPRÜCHE ODER ZUR ZAHLUNG
ZUSÄTZLICHER GEBÜHREN**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/04470

Die Anmeldung entspricht nicht den Erfordernissen der Regel 13.1 PCT (Einheitlichkeit) weil sie zwei Gruppen von Erfindungen enthält, nämlich den Gegenstand der **Ansprüche 1, 19 und 20** sowie der **Ansprüche 21, 30 und 36**, die nicht durch eine einzige allgemeine erfinderische Idee verbunden sind. Zwischen den Gegenständen der Gruppen von Erfindungen besteht kein technischer Zusammenhang im Sinne der Regel 13.2 PCT, der in einem oder mehreren gleichen oder entsprechenden besonderen technischen Merkmalen zum Ausdruck kommt.

Der Gegenstand der **Ansprüche 1, 19 und 20** betrifft eine besondere Elektrodenanordnung in einem Mikrosystem. Die vorbestimmte Krümmung oder winklige Anordnung der Elektrode löst die Aufgabe, Wirksamkeit, Stabilität, Lebensdauer und Vielseitigkeit der Elektroden zu verbessern (Seite 3, 2. Absatz sowie Seite 2, 2. Absatz).

Der Gegenstand der **Ansprüche 21, 30 und 36** betrifft eine besondere Anbringung eines Mikrosystems an den Rotor einer Zentrifuge um suspendierte Partikel in einem Kanal des Mikrosystems zu bewegen. Vorteile sind die Steuerung der Partikelbewegung über die Drehzahlen (Seite 31, 2. Absatz) und die Verwendbarkeit auch für biologische Objekte (Seite 29, 4. Absatz).

Es ist nicht ersichtlich, welche gemeinsamen Merkmale über den Stand der Technik hinausgehen.

Dem Anmelder wird empfohlen neue Ansprüche einzureichen, die dem oben genannten Einwand Rechnung tragen. Dabei sollte jeweils nur ein unabhängiger Anspruch pro Kategorie formuliert werden. Es ist darauf zu achten, daß die unabhängigen Ansprüche jeweils alle wesentliche Merkmale enthalten, die zur Angabe der Erfindung notwendig sind.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

09/720275
JDOGO
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

| | | |
|---|---|---|
| Applicant's or agent's file reference 14839/PCT Ri | FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416) | |
| International application No. PCT/EP99/04470 | International filing date (day/month/year) 28 June 1999 (28.06.99) | Priority date (day/month/year) 26 June 1998 (26.06.98) |
| International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC B03C 5/02, G01N 15/04 | | |
| Applicant EVOTEC BIOSYSTEMS AG | | |

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 5 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☒ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

| | |
|--|---|
| Date of submission of the demand 14 January 2000 (14.01.00) | Date of completion of this report 29 September 2000 (29.09.2000) |
| Name and mailing address of the IPEA/EP | Authorized officer |
| Facsimile No. | Telephone No. |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP99/04470

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1,2,4-39, as originally filed,
 pages _____, filed with the demand,
 pages 3, filed with the letter of 18 September 2000 (18.09.2000),
 pages _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the claims, Nos. _____, as originally filed,
 Nos. _____, as amended under Article 19,
 Nos. _____, filed with the demand,
 Nos. 1-19, filed with the letter of 18 September 2000 (18.09.2000),
 Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the drawings, sheets/fig 1/14-14/14, as originally filed,
 sheets/fig _____, filed with the demand,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☒ the claims, Nos. 20-36
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP 99/04470**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

| | | | |
|-------------------------------|--------|------|-----|
| Novelty (N) | Claims | 1-19 | YES |
| | Claims | | NO |
| Inventive step (IS) | Claims | 1-19 | YES |
| | Claims | | NO |
| Industrial applicability (IA) | Claims | 1-19 | YES |
| | Claims | | NO |

2. Citations and explanations

This report makes reference to the following documents:

D1: FIEDLER S ET AL.: 'DIELECTROPHORETIC SORTING OF PARTICLES AND CELLS IN A MICROSYSTEM' ANALYTICAL CHEMISTRY, vol. 70, no. 9, 1 May 1998 (1998-05-01), pages 1909-1915, XP000755524 ISSN: 0003-2700

D2: DE-A-195 00 660

1. The subject matter of **Claim 1** meets the requirements of PCT Article 33 for novelty and inventive step.

1.1 D1 discloses a microsystem for dielectrophoretic manipulation of particles (page 1909, heading) in a suspension fluid (page 1909, column 1, lines 10-11) in a channel (page 1909, column 1, line 9) which has an electrode arrangement comprising at least one microelectrode on a lateral wall that extends at least partially into the channel (page 1911, column 2, lines 6-10).

1.2 The subject matter of **Claim 1** differs from D1 in that the microelectrode exhibits a predetermined constant curvature relative to the flow direction in the channel or consists of a plurality of straight

THIS PAGE BLANK (USPTO)

electrode sections at predetermined angles relative to the flow direction. Consequently, the field barrier exhibits a predetermined curvature relative to the flow direction.

- 1.3 The technical problem to be solved consists in producing polarizing forces of different strengths in different sections of the channel as viewed in the direction of flow (description, page 5, lines 23-25).
- 1.4 The straight electrode sections at predetermined angles relative to the flow direction disclosed by **D1** (page 1912, column 1, line 5-6) form two convergent straight field barriers. The same result is produced by the straight electrode sections described in **D2**. None of the citations suggests the formation of curved field barriers. The latter, for example, permit shorter particle funnels, since reduced flow in the peripheral area requires a smaller polarizing force in the flow direction to block the passage of particles (description, page 12, paragraph 2).
2. **Claims 2-18** pertain to preferred embodiments of **Claim 1** and as such, insofar as they are comprehensible, meet the PCT requirements for novelty and inventive step.
3. Use of the microsystem as per **Claim 19** is novel and inventive (PCT Article 33(2) and (3)), since the microsystem as per **Claim 1** is novel and inventive.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP 99/04470

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

Pursuant to PCT Rule 5.1(a)(ii), the description should have cited **D1** and briefly outlined the relevant prior art disclosed therein.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

1. The subject matter of **Claims 3 and 5** is unclear (PCT Article 6).
- 1.1 Further, the actual forces that form the resultant force depend on factors not defined in the claims, for example, the frequency and amplitude of the field, the passive electrical properties and size of the particles and the conductivity and viscosity of the suspension fluid. Essential features that are needed to define the invention appear to be missing in the claim (PCT Guidelines, III-4.4).
- 1.2 Moreover, it is not possible without an unreasonable scale of experimentation for a person skilled in the art, presented with an arrangement of curved electrodes in a microsystem, to establish whether the resultant force has a specific direction and hence whether the electrodes are inventive (see PCT Guidelines, III-4.7).
- 1.3 The direction in which the resultant force should act is not clearly specified. The phrases "to an area ... upstream of the microelectrode" and "an area located downstream/upstream of the microelectrode" do not provide a clear definition of the direction.
- 1.4 In defining change of direction, stating which end of the microelectrode is taken as the reference point in establishing the change of direction seems essential.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

VIII. Certain observations on the international application

2. The features in **Claims 11 and 12** by virtue of which the microelectrodes have "a predetermined curve or are at predetermined angles relative to the flow direction in the channel" (dependence on **Claim 1**) and "different geometrical forms" (**Claim 11**) or a "flat" and a "strip-like" form (**Claim 12**) are neither indicated in the description nor apparent in the drawings. **Claims 11 and 12** are therefore not supported by the description, contrary to PCT Article 6.
3. The subject matter of **Claims 17 and 18** pertains to cuboid electrodes that in general have no preferred direction. The claims are dependent on **Claim 1**, according to which the "microelectrode has a predetermined curvature or is at a predetermined angle relative to the flow direction in the channel". Since cuboids are not curved and an angle cannot be defined in the absence of a preferred direction, the claims are unclear (PCT Article 6). Moreover, the claims are not supported by the description, contrary to PCT Article 6.
4. It is unclear (PCT Article 6) in **Claims 17 and 18** how the deflecting electrode should be formed on the opposing channel wall. Moreover, it is unclear in **Claim 17** how the deflecting electrode on the opposing channel wall cooperates with the cuboid collecting electrode.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Der Antrag ist bei der zuständigen mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde oder, wenn zwei oder mehr Behörden zuständig sind, bei der vom Anmelder gewählten Behörde einzureichen. Der Anmelder kann den Namen oder den Zweibuchstaben-Code der Behörde auf der nachstehenden Zeile angeben.

IPEA/ _____

PCT

KAPITEL II

ANTRAG AUF INTERNATIONALE VORLÄUFIGE PRÜFUNG

nach Artikel 31 des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens:
Der (die) Unterzeichnete(n) beantragt (beantragen), daß für die nachstehend bezeichnete internationale Anmeldung die internationale vorläufige Prüfung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens durchgeführt wird.

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

| | |
|----------------------|---------------------------|
| Bezeichnung der IPEA | Eingangsdatum des ANTRAGS |
|----------------------|---------------------------|

| | | |
|---|--|---|
| Feld Nr. I KENNZEICHNUNG DER INTERNATIONALEN ANMELDUNG | | Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 14839/PCT Ri |
| Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/04470 | Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 28.06.1999 | (Frühester) Prioritätstag (Tag/Monat/Jahr) 28.06.1998 |
| Bezeichnung der Erfindung Elektrodenanordnungen zur Erzeugung funktioneller Feldbarrieren in Mikrosystemen | | |
| Feld Nr. II ANMELDER | | |
| Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.) EVOTEC BioSystems AG Schnackenburgallee 114 D-22525 Hamburg (DE) | | Telefonnr.: Telefaxnr.: Fernschreibnr.: |
| Staatsangehörigkeit (Staat): DE | Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE | |
| Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.) Fuhr, Günter Kavalierstraße 15 D-13187 Berlin (DE) | | |
| Staatsangehörigkeit (Staat): DE | Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE | |
| Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.) Schnelle, Thomas Koppenstraße 65 D-10243 Berlin (DE) | | |
| Staatsangehörigkeit (Staat): DE | Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE | |
| <input checked="" type="checkbox"/> Weitere Anmelder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben. | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fortsetzung von Feld Nr. II ANMELDER

Wird keines der folgenden Felder benutzt, so ist dieses Blatt dem Antrag nicht beizufügen.

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Hagedorn, Rolf
Wartiner Straße 16
D-13057 Berlin (DE)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Müller, Torsten
Harriegelstraße 39
D-12439 Berlin (DE)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

☐

Weitere Anmelder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Feld Nr. III ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ZUSTELLANSCHRIFT

- Die folgende Person ist ☒ Anwalt ☐ gemeinsamer Vertreter
- und ☒ ist vom (von den) Anmelder(n) bereits früher bestellt worden und vertritt ihn (sie) auch für die internationale vorläufige Prüfung.
- ☐ wird hiermit bestellt; eine etwaige frühere Bestellung eines Anwalts/gemeinsamen Vertreters wird hiermit widerrufen.
- ☐ wird hiermit zusätzlich zu dem bereits früher bestellten Anwalt/gemeinsamen Vertreter, nur für das Verfahren vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde bestellt.

Name und Anschrift: *(Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)*

Hertz, Oliver
v. Bezold & Sozien
Akademiestraße 7
D-80799 München (DE)

Telefonnr.:

089 / 3899980

Telefaxnr.:

089 / 38999850

Fernschreibnr.:

- ☐ Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben wird.

Feld Nr. IV ERKLÄRUNG BETREFFEND ÄNDERUNGEN

Der Anmelder wünscht, daß die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde*

- i) ☒ die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung aufnimmt.
- ii) ☐ die Änderungen nach Artikel 34
- ☐ der Beschreibung (Änderungen liegen bei)
- ☐ der Ansprüche (Änderungen liegen bei)
- ☐ der Zeichnungen (Änderungen liegen bei)
- berücksichtigt.
- iii) ☐ die beim Internationalen Büro eingereichten Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 berücksichtigt (Kopie liegt bei).
- iv) ☐ die Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 nicht berücksichtigt, sondern als überholt ansieht.
- v) ☐ den Beginn der internationalen vorläufigen Prüfung bis zum Ablauf von 20 Monaten ab dem Prioritätsdatum aufschiebt, sofern die Behörde nicht eine Kopie nach Artikel 19 vorgenommener Änderungen oder eine Erklärung des Anmelders erhält, daß er keine solchen Änderungen vornehmen will (Regel 69.1 d)). *(Dieses Kästchen darf nur angekreuzt werden, wenn die Frist nach Artikel 19 noch nicht abgelaufen ist.)*

* Wenn kein Kästchen angekreuzt wird, wird mit der internationalen vorläufigen Prüfung auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung begonnen; wenn eine Kopie der Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 und/oder Änderungen der internationalen Anmeldung nach Artikel 34 bei der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde eingeht, bevor diese mit der Erstellung eines schriftlichen Bescheids oder des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts begonnen hat, wird jedoch die geänderte Fassung verwendet.

Feld Nr. V BENENNUNG VON STAATEN ALS AUSGEWÄHLTE STAATEN

- ☒ Der Anmelder benennt als ausgewählte Staaten alle auswählbaren Staaten *(das heißt, alle Staaten, die bestimmt wurden und durch Kapitel II des PCT gebunden sind)* ausgenommen
-
-
- (Möchte der Anmelder bestimmte Staaten nicht auswählen, sind die Namen oder Zweibuchstaben-Codes dieser Staaten auf den obenstehenden Zeilen anzugeben.)*

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Feld Nr. VI KONTROLLISTE

Dem Antrag liegen folgende Unterlagen für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung bei:

- | | | |
|---|---|---------|
| 1. Änderungen nach Artikel 34 | | |
| Beschreibung | : | Blätter |
| Ansprüche | : | Blätter |
| Zeichnungen | : | Blätter |
| 2. Begleitschreiben zu den Änderungen nach Artikel 34 | : | Blätter |
| 3. Kopie der Änderungen nach Artikel 19 | : | Blätter |
| 4. Kopie einer Erklärung nach Artikel 19 | : | Blätter |
| 5. Sonstige (einzeln aufführen): | : | Blätter |

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

erhalten nicht erhalten

| | |
|--------------------------|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Dem Antrag liegen außerdem die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:

- | | |
|--|---|
| 1. <input type="checkbox"/> unterzeichnete gesonderte Vollmacht | 4. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung |
| 2. <input type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht | 5. <input type="checkbox"/> sonstige (einzeln aufführen): |
| 3. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen der Unterschrift | |

Feld Nr. VII UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS, ANWALTS ODER GEMEINSAMEN VERTRETERS

Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.

Dr. Oliver Hertz
Patentanwalt

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

- | | |
|---|---|
| 1. Datum des tatsächlichen Eingangs des ANTRAGS: | |
| 2. Geändertes Eingangsdatum des Antrags aufgrund von BERICHTIGUNGEN nach Regel 60.1.b): | |
| 3. <input type="checkbox"/> Eingangsdatum des Antrags NACH Ablauf von 19 Monaten ab Prioritätsdatum; Punkt 4 und Punkt 5, unten, finden keine Anwendung. | <input type="checkbox"/> Der Anmelder wurde entsprechend unterrichtet |
| 4. <input type="checkbox"/> Eingangsdatum des Antrags INNERHALB 19 Monate ab Prioritätsdatum wegen Fristverlängerung nach Regel 80.5. | |
| 5. <input type="checkbox"/> Das Eingangsdatum des Antrags liegt nach Ablauf von 19 Monaten ab Prioritätsdatum, der verspätete Eingang ist aber nach Regel 82 ENTSCULDIGT. | |

Vom Internationalen Büro auszufüllen

Antrag vom IPEA erhalten am:

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT

ANTRAG

Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird.

Vom Anmeldeamt auszufüllen

Internationales Aktenzeichen

Internationales Anmeldedatum

Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts (falls gewünscht)
(max. 12 Zeichen) 14839/PCT Ri

Feld Nr. I BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG

Elektrodenanordnungen zur Erzeugung funktioneller Feldbarrieren in Mikrosystemen

Feld Nr. II ANMELDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

EVOTEC BioSystems AG
Schnackenburgallee 114
D-22525 Hamburg (DE)

☐ Diese Person ist gleichzeitig Erfinder

Telefonnr.:

Telefaxnr.:

Fernschreibnr.:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐

alle Bestimmungsstaaten

☒

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Fuhr, Günter
Kavalierstraße 15
D-13187 Berlin (DE)

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐

alle Bestimmungsstaaten

☐

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☒

Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.

Feld Nr. IV ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ZUSTELLANSCHRIFT

Die folgende Person wird hiermit bestellt/ist bestellt worden, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen internationalen Behörden in folgender Eigenschaft zu handeln als:

☒

Anwalt

☐

gemeinsamer Vertreter

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Hertz, Oliver
v. Bezold & Sozien
Briener Straße 52
D-80333 München (DE)

Telefonnr.:

089 / 524001

Telefaxnr.:

089 / 526898

Fernschreibnr.:

☐

Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben ist.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

| Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER | | | |
|---|--|---|--|
| <i>Wird keines der folgenden Felder benutzt, so ist dieses Blatt dem Antrag nicht beizufügen.</i> | | | |
| <p>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</p> <p>Schnelle, Thomas Koppenstraße 65 D-10243 Berlin (DE)</p> | | <p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p> | |
| Staatsangehörigkeit (Staat): DE | | Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE | |
| <p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p> | | | |
| <p>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</p> <p>Hagedorn, Rolf Wartiner Straße 16 D-13057 Berlin (DE)</p> | | <p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p> | |
| Staatsangehörigkeit (Staat): DE | | Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE | |
| <p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p> | | | |
| <p>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</p> <p>Müller, Torsten Hartriegelstraße 39 D-12439 Berlin (DE)</p> | | <p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p> | |
| Staatsangehörigkeit (Staat): DE | | Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE | |
| <p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p> | | | |
| <p>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</p> | | <p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p> | |
| Staatsangehörigkeit (Staat): | | Sitz oder Wohnsitz (Staat): | |
| <p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p> | | | |
| <p><input type="checkbox"/> Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.</p> | | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Feld Nr. V BESTIMMUNG VON STAATEN

Die folgenden Bestimmungen nach Regel 4.9 Absatz a werden hiermit vorgenommen (bitte die entsprechenden Kästchen ankreuzen; wenigstens ein Kästchen muß angekreuzt werden):

Regionales Patent

- ☐ AP **ARIPO-Patent:** GH Ghana, GM Gambia, KE Kenia, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SZ Swasiland, UG Uganda, ZW Simbabwe und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Harare-Protokolls und des PCT ist
- ☐ EA **Eurasisches Patent:** AM Armenien, AZ Aserbaidshan, BY Belarus, KG Kirgisistan, KZ Kasachstan, MD Republik Moldau, RU Russische Föderation, TJ Tadschikistan, TM Turkmenistan und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☒ EP **Europäisches Patent:** AT Österreich, BE Belgien, CH und LI Schweiz und Liechtenstein, DE Deutschland, DK Dänemark, ES Spanien, FI Finnland, FR Frankreich, GB Vereinigtes Königreich, GR Griechenland, IE Irland, IT Italien, LU Luxemburg, MC Monaco, NL Niederlande, PT Portugal, SE Schweden und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☐ OA **OAPI-Patent:** BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Zentralafrikanische Republik, CG Kongo, CI Côte d'Ivoire, CM Kamerun, GA Gabun, GN Guinea, ML Mali, MR Mauretanien, NE Niger, SN Senegal, TD Tschad, TG Togo und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat der OAPI und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben)

Nationales Patent (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben):

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> AL Albanien | <input type="checkbox"/> LT Litauen |
| <input type="checkbox"/> AM Armenien | <input type="checkbox"/> LU Luxemburg |
| <input type="checkbox"/> AT Österreich | <input type="checkbox"/> LV Lettland |
| <input type="checkbox"/> AU Australien | <input type="checkbox"/> MD Republik Moldau |
| <input type="checkbox"/> AZ Aserbaidshan | <input type="checkbox"/> MG Madagaskar |
| <input type="checkbox"/> BA Bosnien-Herzegowina | <input type="checkbox"/> MK Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien |
| <input type="checkbox"/> BB Barbados | <input type="checkbox"/> MN Mongolei |
| <input type="checkbox"/> BG Bulgarien | <input type="checkbox"/> MW Malawi |
| <input type="checkbox"/> BR Brasilien | <input type="checkbox"/> MX Mexiko |
| <input type="checkbox"/> BY Belarus | <input type="checkbox"/> NO Norwegen |
| <input type="checkbox"/> CA Kanada | <input type="checkbox"/> NZ Neuseeland |
| <input type="checkbox"/> CH und LI Schweiz und Liechtenstein | <input type="checkbox"/> PL Polen |
| <input type="checkbox"/> CN China | <input type="checkbox"/> PT Portugal |
| <input type="checkbox"/> CU Kuba | <input type="checkbox"/> RO Rumänien |
| <input type="checkbox"/> CZ Tschechische Republik | <input type="checkbox"/> RU Russische Föderation |
| <input type="checkbox"/> DE Deutschland | <input type="checkbox"/> SD Sudan |
| <input type="checkbox"/> DK Dänemark | <input type="checkbox"/> SE Schweden |
| <input type="checkbox"/> EE Estland | <input type="checkbox"/> SG Singapur |
| <input type="checkbox"/> ES Spanien | <input type="checkbox"/> SI Slowenien |
| <input type="checkbox"/> FI Finnland | <input type="checkbox"/> SK Slowakei |
| <input type="checkbox"/> GB Vereinigtes Königreich | <input type="checkbox"/> SL Sierra Leone |
| <input type="checkbox"/> GE Georgien | <input type="checkbox"/> TJ Tadschikistan |
| <input type="checkbox"/> GH Ghana | <input type="checkbox"/> TM Turkmenistan |
| <input type="checkbox"/> GM Gambia | <input type="checkbox"/> TR Türkei |
| <input type="checkbox"/> GW Guinea-Bissau | <input type="checkbox"/> TT Trinidad und Tobago |
| <input type="checkbox"/> HU Ungarn | <input type="checkbox"/> UA Ukraine |
| <input type="checkbox"/> ID Indonesien | <input type="checkbox"/> UG Uganda |
| <input type="checkbox"/> IL Israel | <input checked="" type="checkbox"/> US Vereinigte Staaten von Amerika |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japan | <input type="checkbox"/> UZ Usbekistan |
| <input type="checkbox"/> KE Kenia | <input type="checkbox"/> VN Vietnam |
| <input type="checkbox"/> KG Kirgisistan | <input type="checkbox"/> YU Jugoslawien |
| <input type="checkbox"/> KP Demokratische Volksrepublik Korea | <input type="checkbox"/> ZW Simbabwe |
| <input type="checkbox"/> KR Republik Korea | |
| <input type="checkbox"/> KZ Kasachstan | |
| <input type="checkbox"/> LC Saint Lucia | |
| <input type="checkbox"/> LK Sri Lanka | |
| <input type="checkbox"/> LR Liberia | |
| <input type="checkbox"/> LS Lesotho | |

Kästchen für die Bestimmung von Staaten (für die Zwecke eines nationalen Patents), die dem PCT nach der Veröffentlichung dieses Formblatts beigetreten sind:

- ☐
- ☐
- ☐

Zusätzlich zu den oben genannten Bestimmungen nimmt der Anmelder nach Regel 4.9 Absatz b auch alle anderen nach dem PCT zulässigen Bestimmungen vor mit Ausnahme der Bestimmung von

Der Anmelder erklärt, daß diese zusätzlichen Bestimmungen unter dem Vorbehalt einer Bestätigung stehen und jede zusätzliche Bestimmung, die vor Ablauf von 15 Monaten ab dem Prioritätsdatum nicht bestätigt wurde, nach Ablauf dieser Frist als vom Anmelder zurückgenommen gilt. (Die Bestätigung einer Bestimmung erfolgt durch die Einreichung einer Mitteilung, in der diese Bestimmung angegeben wird, und die Zahlung der Bestimmungs- und der Bestätigungsgebühr. Die Bestätigung muß beim Anmeldeamt innerhalb der Frist von 15 Monaten eingehen.)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Zusatzfeld Wird dieses Zusatzfeld nicht benutzt, so ist dieses Blatt dem Antrag nicht beizufügen.

Dieses Feld ist in folgenden Fällen auszufüllen:

1. Wenn der Platz in einem Feld nicht für alle Angaben ausreicht:

insbesondere:

i) Wenn mehr als zwei Anmelder und/oder Erfinder vorhanden sind und kein Fortsetzungsblatt zur Verfügung steht:

In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. ..." [Nummer des Feldes angeben] die gleichen Angaben zu machen wie in dem Feld vorgesehen, das platzmäßig nicht ausreicht;

ii) Wenn in Feld Nr. II oder III die Angabe "die im Zusatzfeld angegebenen Staaten" angekreuzt ist:

In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. III" für jede weitere Person die in Feld Nr. III vorgesehenen Angaben zu machen. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.

iii) Wenn der in Feld Nr. II oder III genannte Erfinder oder Erfinder/Anmelder nicht für alle Bestimmungsstaaten oder für die Vereinigten Staaten von Amerika als Erfinder benannt ist:

In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. II", "Fortsetzung von Feld Nr. III" oder "Fortsetzung von Feld Nr. II und Nr. III" die Namen der Anmelder und neben jedem Namen der Staat oder die Staaten (und/oder ggf. ARIPO-, eurasisches, europäisches oder OAPI-Patent) anzugeben, für die die bezeichnete Person Anmelder ist.

iv) Wenn zusätzlich zu dem Anwalt/den Anwälten, die in Feld Nr. IV angegeben sind, weitere Anwälte bestellt sind:

In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. II" oder "Fortsetzung von Feld Nr. III" oder "Fortsetzung von Feld Nr. II und Nr. III" der Name des Erfinders und neben jedem Namen der Staat oder die Staaten (und/oder ggf. ARIPO-, eurasisches, europäisches oder OAPI-Patent) anzugeben, für die die bezeichnete Person Erfinder ist.

v) Wenn in Feld Nr. V bei einem Staat (oder bei OAPI) die Angabe "Zusatzpatent" oder "Zusatzzertifikat" oder wenn in Feld Nr. V bei den Vereinigten Staaten von Amerika die Angabe "Fortsetzung" oder "Teilfortsetzung" hinzugefügt wird:

In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. IV" für jeden weiteren Anwalt die gleichen Angaben zu machen wie in Feld Nr. IV vorgesehen.

vi) Wenn die Priorität von mehr als drei früheren Anmeldungen beansprucht wird:

In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. V" die Namen der betreffenden Staaten (oder OAPI) und nach dem Namen jeder dieser Staaten (oder OAPI) das Aktenzeichen des Hauptschutzrechts oder der Hauptschutzrechtsanmeldung und das Datum der Erteilung des Hauptschutzrechts oder der Einreichung der Hauptschutzrechtsanmeldung anzugeben.

2. Wenn der Anmelder für irgendein Bestimmungsamt die Vergünstigung nationaler Vorschriften betreffend unschädliche Offenbarung oder Ausnahmen von der Neuheitsschädlichkeit in Anspruch nimmt:

In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. VI" für jede weitere frühere Anmeldung die gleichen Angaben zu machen wie in Feld Nr. VI vorgesehen.

In diesem Fall ist mit dem Vermerk "Erklärung betreffend unschädliche Offenbarung oder Ausnahmen von der Neuheitsschädlichkeit" nachstehend diese Erklärung abzugeben.

DE

198 60 118.4

23.12.1998

THIS PAGE BLANK (USPTO)

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|--|---|--|---------|-----------------|------|---------|--------------|-----|---------|--------------------|-----|---------|----------------|------|---------|------------------|-------------|----------------|---|--|--|---|---|--|--|--|--|--|
| Feld Nr. VI PRIORITÄTSANSPRUCH | | Weitere Prioritätsansprüche sind im Zusatzfeld angegeben. <input checked="" type="checkbox"/> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Die Priorität der folgenden früheren Anmeldung(en) wird hiermit beansprucht: | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Staat <i>(Anmelde- oder Bestimmungsstaat der Anmeldung)</i> | Anmeldedatum <i>(Tag/Monat/Jahr)</i> | Aktenzeichen | Anmeldeamt <i>(nur bei regionaler oder internationaler Anmeldung)</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| (1) <div style="text-align: center;">DE</div> | 198 28 626.0 | 26.06.1998 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| (2) <div style="text-align: center;">DE</div> | 198 28 919.7 | 29.06.1998 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| (3) <div style="text-align: center;">DE</div> | 198 53 658.5 | 20.11.1998 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p><i>Dieses Kästchen ankreuzen, wenn die beglaubigte Kopie der früheren Anmeldung von dem Amt ausgestellt werden soll, das für die Zwecke dieser internationalen Anmeldung Anmeldeamt ist (eine Gebühr kann verlangt werden):</i></p> <p><input type="checkbox"/> Das Anmeldeamt wird hiermit ersucht, eine beglaubigte Abschrift der oben in Zeile(n) _____ bezeichneten früheren Anmeldung(en) zu erstellen und dem Internationalen Büro zu übermitteln.</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Feld Nr. VII INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>Wahl der Internationalen Recherchenbehörde (ISA) <i>(Sind zwei oder mehr Internationale Recherchenbehörden für die internationale Recherche zuständig, ist der Name der Behörde anzugeben, die die internationale Recherche durchführen soll; Zweibuchstaben-Code genügt):</i> ISA / _____</p> <p>Frühere Recherche <i>Auszufüllen, wenn eine Recherche (internationale Recherche, Recherche internationaler Art oder sonstige Recherche) bereits bei der internationalen Recherchenbehörde beantragt oder von ihr durchgeführt worden ist und diese Behörde nun ersucht wird, die internationale Recherche soweit wie möglich auf die Ergebnisse einer solchen früheren Recherche zu stützen. Die Recherche oder der Recherchenantrag ist durch Angabe der betreffenden Anmeldung (bzw. deren Übersetzung) oder des Recherchenantrags zu bezeichnen.</i></p> <p>Staat (oder regionales Amt): _____ Datum (Tag/Monat/Jahr) : _____ Aktenzeichen: _____</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Feld Nr. VIII KONTROLLISTE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>Diese internationale Anmeldung umfaßt:</p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td>1. Antrag</td> <td>: 5</td> <td>Blätter</td> </tr> <tr> <td>2. Beschreibung</td> <td>: 39</td> <td>Blätter</td> </tr> <tr> <td>3. Ansprüche</td> <td>: 7</td> <td>Blätter</td> </tr> <tr> <td>4. Zusammenfassung</td> <td>: 1</td> <td>Blätter</td> </tr> <tr> <td>5. Zeichnungen</td> <td>: 14</td> <td>Blätter</td> </tr> <tr> <td>Insgesamt</td> <td>: 57</td> <td>Blätter</td> </tr> </table> | | 1. Antrag | : 5 | Blätter | 2. Beschreibung | : 39 | Blätter | 3. Ansprüche | : 7 | Blätter | 4. Zusammenfassung | : 1 | Blätter | 5. Zeichnungen | : 14 | Blätter | Insgesamt | : 57 | Blätter | <p>Dieser internationalen Anmeldung liegen die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:</p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td>1. <input checked="" type="checkbox"/> Unterzeichnete gesonderte Vollmacht</td> <td>5. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung</td> </tr> <tr> <td>2. <input type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht</td> <td>6. <input type="checkbox"/> Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen</td> </tr> <tr> <td>3. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen der Unterschrift</td> <td>7. <input type="checkbox"/> Sequenzprotokolle für Nucleotide und/oder Aminosäuren (Diskette)</td> </tr> <tr> <td>4. <input type="checkbox"/> Prioritätsbeleg(e) <i>(durch die Zeilennummer von Feld Nr. VI kennzeichnen):</i></td> <td>8. <input type="checkbox"/> Sonstige <i>(einzeln aufführen):</i></td> </tr> </table> | | 1. <input checked="" type="checkbox"/> Unterzeichnete gesonderte Vollmacht | 5. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung | 2. <input type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht | 6. <input type="checkbox"/> Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen | 3. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen der Unterschrift | 7. <input type="checkbox"/> Sequenzprotokolle für Nucleotide und/oder Aminosäuren (Diskette) | 4. <input type="checkbox"/> Prioritätsbeleg(e) <i>(durch die Zeilennummer von Feld Nr. VI kennzeichnen):</i> | 8. <input type="checkbox"/> Sonstige <i>(einzeln aufführen):</i> |
| 1. Antrag | : 5 | Blätter | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2. Beschreibung | : 39 | Blätter | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3. Ansprüche | : 7 | Blätter | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4. Zusammenfassung | : 1 | Blätter | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5. Zeichnungen | : 14 | Blätter | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Insgesamt | : 57 | Blätter | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1. <input checked="" type="checkbox"/> Unterzeichnete gesonderte Vollmacht | 5. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2. <input type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht | 6. <input type="checkbox"/> Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen der Unterschrift | 7. <input type="checkbox"/> Sequenzprotokolle für Nucleotide und/oder Aminosäuren (Diskette) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4. <input type="checkbox"/> Prioritätsbeleg(e) <i>(durch die Zeilennummer von Feld Nr. VI kennzeichnen):</i> | 8. <input type="checkbox"/> Sonstige <i>(einzeln aufführen):</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Abbildung Nr. 1 _____ der Zeichnungen (falls vorhanden) soll mit der Zusammenfassung veröffentlicht werden. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Feld Nr. IX UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS ODER DES ANWALTS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p><i>Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht eindeutig aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.</i></p> <p>Hertz, Oliver Europäischer Patentanwalt</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

| | |
|--|--|
| Vom Anmeldeamt auszufüllen | |
| <p>1. Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung:</p> <p>3. Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingegangener Unterlagen oder Zeichnungen zur Vervollständigung dieser internationalen Anmeldung:</p> <p>4. Datum des fristgerechten Eingangs der angeforderten Richtigstellungen nach Artikel 11(2) PCT:</p> | <p>2. Zeichnungen</p> <p><input type="checkbox"/> eingegangen:</p> <p><input type="checkbox"/> nicht eingegangen:</p> |
| <p>5. Vom Anmelder benannte Internationale Recherchenbehörde: ISA / _____</p> | <p>6. <input type="checkbox"/> Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchegebühr aufgeschoben</p> |

| |
|---|
| Vom Internationalen Büro auszufüllen |
| <p>Datum des Eingangs des Aktenexemplars beim Internationalen Büro:</p> |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT

BLATT FÜR DIE GEBÜHRENBERECHNUNG

Anhang zum Antrag

Von Anmeldeamt auszufüllen

Internationales Aktenzeichen

Eingangsstempel des Anmeldeamts

Aktenzeichen des Anmelders
oder Anwalts

14839/PCT Ri

Anmelder

EVOTEC BioSystems AG et al.

BERECHNUNG DER VORGESCHRIEBENEN GEBÜHREN

1. ÜBERMITTLUNGSGEBÜHR 199,49 T

2. RECHERCHENGEBÜHR 2.198,35 S

Die internationale Recherche ist durchzuführen von _____
(Sind zwei oder mehr Internationale Recherchenbehörden für die internationale Recherche zuständig,
ist der Name der Behörde anzugeben, die die internationale Recherche durchführen soll.)

3. INTERNATIONALE GEBÜHR

Grundgebühr

Die internationale Anmeldung enthält 66 Blätter.

umfaßt die ersten 30 Blätter 807,76 b₁

36 x 19,56 = 704,16 b₂

Anzahl der Blätter Zusatzblattgebühr
über 30

Addieren Sie die in Feld b₁ und b₂ eingetragenen
Beträge, und tragen Sie die Summe in Feld B ein 1.511,92 B

Bestimmungsgebühren

Die internationale Anmeldung enthält 3 Bestimmungen.

3 x 185,80 = 557,40 D

Anzahl der zu zahlenden Bestimmungsgebühr

Bestimmungsgebühren (maximal 11)

Addieren Sie die in Feld B und D eingetragenen
Beträge, und tragen Sie die Summe in Feld I ein 2.069,32 I
(Anmelder aus einigen Staaten haben Anspruch auf eine Ermäßigung der internationalen Gebühr um
75%. Hat der Anmelder (oder haben alle Anmelder) einen solchen Anspruch, so beträgt der in Feld I
einzutragende Gesamtbetrag 25% der Summe der in Feld B und D eingetragenen Beträge.)

4. GEBÜHR FÜR PRIORITÄTSBELEG P

GESAMTBETRAG DER ZU ZAHLENDEN GEBÜHREN

Addieren Sie die in Feldern T, S, I und P eingetragenen Beträge,
und tragen Sie die Summe in das nebenstehende Feld ein 4.467,16

INSGESAMT

☐ Die Bestimmungsgebühren werden jetzt noch nicht gezahlt.

ZAHLUNGSWEISE

- | | | |
|--|---|--|
| <input type="checkbox"/> Abbuchungsauftrag (siehe unten) | <input type="checkbox"/> Bankwechsel | <input type="checkbox"/> Kupons |
| <input checked="" type="checkbox"/> Scheck | <input type="checkbox"/> Barzahlung | <input type="checkbox"/> Sonstige (einzeln angeben): |
| <input type="checkbox"/> Postanweisung | <input type="checkbox"/> Gebührenmarken | |

ABBUCHUNGSAUFTRAG (diese Zahlungsweise gibt es nicht bei allen Anmeldeämtern)

- Das Anmeldeamt/ _____ ☐ wird beauftragt, den vorstehend angegebenen Gesamtbetrag der Gebühren von meinem laufenden Konto abzubuchen.
- ☐ wird beauftragt, Fehlbeträge oder Überzahlungen des vorstehend angegebenen Gesamtbetrags der Gebühren meinem laufenden Konto zu belasten bzw. gutzuschreiben.
- ☐ wird beauftragt, die Gebühr für die Ausstellung des Prioritätsbelegs und seine Übermittlung an das Internationale Büro der WIPO von meinem laufenden Konto abzubuchen.

Kontonummer

Datum (Tag/Monat/Jahr)

Unterschrift

THIS PAGE BLANK (USPTO)

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESEN

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:

Hertz, Oliver
VON BEZOLD & SOZIEN
Akademiestrasse 7
D-80799 München
ALLEMAGNE

EINGEGANGEN

- 2. Okt. 2000

v. Bezold & Sozien

PCT

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERSENDUNG
DES INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNGSBERICHTS

(Regel 71.1 PCT)

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr)

2 9. 09. 00

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts
14839/PCT Ri

WICHTIGE MITTEILUNG

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP99/04470

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)
28/06/1999

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)
26/06/1998

Anmelder

EVOTEC BIOSYSTEMS AG et al.

1. Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß ihm die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde hiermit den zu der internationalen Anmeldung erstellten internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen, übermittelt.
2. Eine Kopie des Berichts wird - gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen - dem Internationalen Büro zur Weiterleitung an alle ausgewählten Ämter übermittelt.
3. Auf Wunsch eines ausgewählten Amtes wird das Internationale Büro eine Übersetzung des Berichts (jedoch nicht der Anlagen) ins Englische anfertigen und diesem Amt übermitteln.

4. ERINNERUNG

Zum Eintritt in die nationale Phase hat der Anmelder vor jedem ausgewählten Amt innerhalb von 30 Monaten ab dem Prioritätsdatum (oder in manchen Ämtern noch später) bestimmte Handlungen (Einreichung von Übersetzungen und Entrichtung nationaler Gebühren) vorzunehmen (Artikel 39 (1)) (siehe auch die durch das Internationale Büro im Formblatt PCT/IB/301 übermittelte Information).

Ist einem ausgewählten Amt eine Übersetzung der internationalen Anmeldung zu übermitteln, so muß diese Übersetzung auch Übersetzungen aller Anlagen zum internationalen vorläufigen Prüfungsbericht enthalten. Es ist Aufgabe des Anmelders, solche Übersetzungen anzufertigen und den betroffenen ausgewählten Ämtern direkt zuzuleiten.

Weitere Einzelheiten zu den maßgebenden Fristen und Erfordernissen der ausgewählten Ämter sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung
beauftragten Behörde



Europäisches Patentamt
D-80298 München
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter

Salaün, M

Tel. +49 89 2399-2126



THIS PAGE BLANK (USPTO)

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT



(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

| | | |
|---|---|---|
| Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 14839/PCT Ri | WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsbericht (Formblatt PCT/IPEA/416) | |
| Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/04470 | Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 28/06/1999 | Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 26/06/1998 |
| Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK B03C5/02 | | |
| Anmelder EVOTEC BIOSYSTEMS AG et al. | | |

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationale vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
- ☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).
- Diese Anlagen umfassen insgesamt 5 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderische Tätigkeit und der gewerbliche Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

| | |
|--|--|
| Datum der Einreichung des Antrags 14/01/2000 | Datum der Fertigstellung dieses Berichts 2 9. 09. 00 |
| Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465 | Bevollmächtigter Bediensteter Koob, M Tel. Nr. +49 89 2399 2080  |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/04470

I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

Beschreibung, Seiten:

1,2,4-39 ursprüngliche Fassung

3 eingegangen am 18/09/2000 mit Schreiben vom 18/09/2000

Patentansprüche, Nr.:

1-19 eingegangen am 18/09/2000 mit Schreiben vom 18/09/2000

Zeichnungen, Blätter:

1/14-14/14 ursprüngliche Fassung

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
☒ Ansprüche, Nr.: 20-36
☐ Zeichnungen, Blatt:

3. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/04470

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

| | | |
|--------------------------------|-----------------|------|
| Neuheit (N) | Ja: Ansprüche | 1-19 |
| | Nein: Ansprüche | |
| Erfinderische Tätigkeit (ET) | Ja: Ansprüche | 1-19 |
| | Nein: Ansprüche | |
| Gewerbliche Anwendbarkeit (GA) | Ja: Ansprüche | 1-19 |
| | Nein: Ansprüche | |

2. Unterlagen und Erklärungen

siehe Beiblatt

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:

siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:

siehe Beiblatt

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Es wird auf das folgende Dokument verwiesen:

D1: FIEDLER S ET AL: 'DIELECTROPHORETIC SORTING OF PARTICLES AND CELLS IN A MICROSYSTEM' ANALYTICAL CHEMISTRY, Bd. 70, Nr. 9, 1. Mai 1998 (1998-05-01), Seiten 1909-1915, XP000755524 ISSN: 0003-2700

D2: DE 195 00 660 A

V. Begründete Feststellung

1. Der Gegenstand des **Anspruchs 1** entspricht den Erfordernissen des Artikel 33 PCT in Bezug auf Neuheit und erfinderische Tätigkeit.
 - 1.1 Das Dokument **D1** offenbart ein Mikrosystem zur dielektrophoretischen Manipulation von Partikeln (Seite 1909, Überschrift) in einer Suspensionsflüssigkeit (Seite 1909, Spalte 1, Zeilen 10-11) in einem Kanal (Seite 1909, Spalte 1, Zeile 9) das eine Elektrodenanordnung mit mindestens einer Mikroelektrode an einer seitlichen Wand enthält, die den Kanal zumindest teilweise durchsetzt (Seite 1911, Spalte 2, Zeilen 6-10).
 - 1.2 Der Gegenstand des **Anspruchs 1** unterscheidet sich von **D1** darin, daß die Mikroelektrode in Bezug auf die Strömungsrichtung in Kanal einen vorbestimmten stetigen Krümmungsverlauf besitzt oder aus einer Vielzahl jeweils gerader Elektrodenabschnitte mit vorbestimmten Winkeln in Bezug auf die Strömungsrichtung besteht, so daß die Feldbarriere einen vorbestimmten Krümmungsverlauf relativ zur Strömungsrichtung besitzt.
 - 1.3 Die technische Aufgabe ist die Erzeugung von, in Strömungsrichtung gesehen, verschieden starken Polarisationskräften in Abhängigkeit vom jeweiligen Kanalbereich (Beschreibung Seite 5, Zeilen 23-25).
 - 1.4 Die aus **D1** bekannten geraden Elektrodenabschnitte mit vorbestimmten Winkel in Bezug auf die Strömungsrichtung (Seite 1912, Spalte 1, Zeilen 5-6) erzeugen zwei konvergierende gerade Feldbarrieren. Gleiches gilt für die geraden

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Elektrodenabschnitte in **D2**. In keinem der Dokumente befindet sich ein Hinweis zur Erzeugung von gekrümmten Feldbarrieren. Durch gekrümmte Feldbarrieren können beispielsweise kürzere Partikeltrichter erzeugt werden, da die im Randbereich geringere Strömung auch nur eine in Strömungsrichtung geringere Polarisationskraft benötigt, um die Partikel am Passieren zu hindern (Beschreibung Seite 12, 2. Absatz).

2. Die **Ansprüche 2-18** betreffen bevorzugte Ausführungsbeispiele des **Anspruchs 1** und erfüllen, insofern sie verstanden werden können, als solche die Erfordernisse des PCT in Bezug auf Neuheit und erfinderisch Tätigkeit.
3. Eine Verwendung des Mikrosystems gemäß **Anspruch 19** ist neu und erfinderisch (Artikel 33(2) und (3) PCT) da das Mikrosystem gemäß **Anspruch 1** neu und erfinderisch ist.

VII. Bestimmte Mängel

Um die Erfordernisse der Regel 5.1(a)(ii) PCT zu erfüllen, ist in der Beschreibung das Dokument **D1** zu nennen, der darin enthaltene einschlägige Stand der Technik sollte kurz umrissen werden.

VIII. Bestimmte Bemerkungen

1. Der Gegenstand der **Ansprüche 3 und 5** ist unklar (Artikel 6 PCT).
 - 1.1 Desweiteren hängen die Kräfte selbst, die die resultierende Kraft bilden, von Faktoren ab, die in den Ansprüchen nicht definiert sind, beispielsweise Frequenz und Amplitude des Feldes, passive elektrische Eigenschaften und Größe der Partikel, Leitfähigkeit und Viskosität der Suspensionsflüssigkeit. Es scheinen wesentliche Merkmale im Anspruch zu fehlen, die zur Definition der Erfindung notwendig sind (siehe PCT-Richtlinien III-4.4).
 - 1.2 Außerdem ist es dem Fachmann bei Vorliegen einer Anordnung von gekrümmten Elektroden in einem Mikrosystem unmöglich ohne unzumutbare Experimente festzustellen, ob die Richtung der resultierenden Kraft in eine bestimmte Richtung

THIS PAGE BLANK (USPTO)

weist und damit die Elektroden erfindungsgemäß sind oder nicht (siehe PCT-Richtlinien III-4.7).

- 1.3 Es ist unklar, in welche Richtung die resultierende Kraft zeigen muß. Die Formulierungen "in einen Bereich ... der stromaufwärts in Bezug auf die Mikroelektrode" bzw "in Bezug auf die Mikroelektrode stromabwärts/-aufwärts gelegenen Bereich" stellen keine eindeutige Definition der Richtung dar.
- 1.4 Bei der Definition der Richtungsänderung scheint es wesentlich zu sein, von welchem Ende der Mikroelektrode bei der Festlegung der Richtungsänderung ausgegangen wird.
2. Die Merkmale der **Ansprüche 11 und 12**, daß "Mikroelektroden eine vorbestimmte Krümmung oder vorbestimmte Winkel in Bezug auf die Strömungsrichtung im Kanal" (Abhängigkeit von **Anspruch 1**) und "verschiedene geometrische Formen" (**Anspruch 11**) bzw eine "flächige" und eine "bandförmige" Form (**Anspruch 12**) besitzen, wird weder in der Beschreibung genannt noch ist es aus den Zeichnungen ersichtlich. Die **Ansprüche 11 und 12** sind daher nicht, wie in Artikel 6 PCT vorgeschrieben, von der Beschreibung gestützt.
3. Der Gegenstand der **Ansprüche 17 und 18** betrifft quaderförmige Elektroden, die im allgemeinen keine bevorzugte Richtung haben. Die Ansprüche sind abhängig von **Anspruch 1**, wonach die "Mikroelektrode eine vorbestimmte Krümmung oder vorbestimmte Winkel in Bezug auf die Strömungsrichtung im Kanal besitzt". Da Quader nicht gekrümmt sind und ohne bevorzugte Richtung kein Winkel definiert werden kann, sind die Ansprüche unklar (Artikel 6 PCT). Außerdem sind die Ansprüche nicht, wie in Artikel 6 PCT vorgeschrieben, von der Beschreibung gestützt.
4. In den **Ansprüchen 17 und 18** ist unklar (Artikel 6 PCT), wie die Ablenkelektrode auf der gegenüberliegenden Kanalwand ausgebildet sein muß. Außerdem ist in **Anspruch 17** unklar, wie die Ablenkelektrode auf der gegenüberliegenden Kanalwand mit der quaderförmigen Sammelelektrode zusammenwirkt.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

der Kanalstruktur oder die Ablenkung von Teilchen aus einer gegebenen Strömung beschränkt.

Die Aufgabe der Erfindung ist es, verbesserte ~~Elektrodenanordnungen~~^{zur} für Mikrosysteme mit dielektrophoretischen Teilchenablenkung zu schaffen, mit denen die Nachteile herkömmlicher Mikrosysteme überwunden werden und die insbesondere einen erweiterten Anwendungsbereich besitzen und ermöglichen, auch über kürzere Kanalabschnitte wirksame Feldbarrieren zu erzeugen. Die Aufgabe der Erfindung ist es auch, neuartige ~~Mikrosysteme, die mit derart verbesserten Elektrodenanordnungen ausgestattet sind, und Anwendungen derartiger Mikrosysteme~~ anzugeben.

Diese Aufgabe wird durch ~~Elektrodenanordnungen~~^{ein Mikrosystem} mit den Merkmalen gemäß dem Patentanspruch 1 gelöst. Vorteilhafte Ausführungsformen und Anwendungen der Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

Eine ~~erfindungsgemäße Elektrodenanordnung~~^{5) Mikrosystem} ist insbesondere dazu eingerichtet, ~~in einem~~ Mikrosystem Feldbarrieren entlang vorbestimmter Bezugsflächen zu erzeugen, die sich zumindest teilweise über die Breite eines Kanals im Mikrosystem erstrecken und vorbestimmte Krümmungen relativ zur Längsausdehnung des Kanals, zur Strömungsrichtung der Suspensionsflüssigkeit im Kanal oder zur Bewegungsrichtung der (nicht abgelenkten) Teilchen besitzen. Mit dem Begriff "Bezugsfläche" wird in diesem Zusammenhang nicht nur ein zweidimensionales Gebilde bezeichnet, sondern ein Raumbereich, auf den sich die Feldwirkung der jeweiligen Mikroelektroden erstreckt und in dem die Feldbarriere zur dielektrischen Beeinflussung der mikroskopischen Teilchen im Mikrosystem ausgebildet ist. Dieser Raumbereich entspricht im wesentlichen einem Bereich, der von den Feldlinien der wirksamen Mikroelektroden durchsetzt wird, und erstreckt sich bei zusammenwirkenden Mikroelektrodenpaaren als

THIS PAGE BLANK (USPTO)

~~PCT/EP99/04470~~~~18-09-2000~~~~EP099/04470~~~~18220/PCT-Ho/99~~**PATENTANSPRÜCHE**

1. Mikrosystem (20), das zur dielektrophoretischen Manipulierung von Teilchen (30, 30a, 30b) in einer Suspensionsflüssigkeit in einem Kanal (21, 211, 212) eingerichtet ist und eine Elektrodenanordnung (10) mit mindestens einer Mikroelektrode (11, 11a-e, 12, 41a-f, 47, 51a, 51b, 511b, 512b, 61a-e, 612a, 71a, 71b, 711a) auf einer seitlichen Wand (21a, 21b, 23) des Kanals zur Erzeugung einer Feldbarriere enthält, die den Kanal zumindest teilweise durchsetzt,

dadurch gekennzeichnet, dass

die Mikroelektrode in Bezug auf die Strömungsrichtung im Kanal einen vorbestimmten stetigen Krümmungsverlauf besitzt oder aus einer Vielzahl jeweils gerader Elektrodenabschnitte mit vorbestimmten Winkeln in Bezug auf die Strömungsrichtung besteht, so dass die Feldbarriere einen vorbestimmten Krümmungsverlauf relativ zur Strömungsrichtung besitzt.

2. Mikrosystem gemäß Anspruch 1, in dem die Elektrodenanordnung mindestens zwei an gegenüberliegenden Kanalwänden angebrachte Mikroelektroden (11, 12) gleicher Gestalt und Ausrichtung umfasst, die jeweils die Form eines gekrümmten Bandes besitzen.

3. Mikrosystem gemäß Anspruch 2, in dem die Mikroelektroden (11a-e, 41a-f) in Abhängigkeit vom Strömungsprofil so gekrümmt sind, dass in jedem Abschnitt der Feldbarriere der Mikroelektrode die auf ein Teilchen wirkende, aus Polarisations- und Strömungskräften resultierende Kraft in einen Bereich weist, der stromaufwärts in Bezug auf die Mikroelektrode gelegen ist.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

4. Mikrosystem gemäß Anspruch 3, in dem vier Mikroelektroden als Fokussierelektroden (11a-e) zur Bildung eines Partikeltrichters angeordnet sind.

5. Mikrosystem gemäß Anspruch 2, in dem die Mikroelektroden (11a-e, 41a-f) in Abhängigkeit vom Strömungsprofil so gekrümmt sind, dass die auf ein Teilchen wirkende aus Polarisations- und Strömungskräften resultierende Kraft von einem Ende der Mikroelektrode hin zum anderen Ende eine Richtungsänderung durchläuft, die von einer Richtung in einen in Bezug auf die Mikroelektrode stromabwärts gelegenen Bereich zu einer Richtung in einen in Bezug auf die Mikroelektrode stromaufwärts gelegenen Bereich führt.

6. Mikrosystem gemäß Anspruch 5, in dem zwei Mikroelektroden als Sortierelektroden (11a-e, 41a-f) vorgesehen sind, deren Feldbarriere mit dem Strömungsprofil der Suspensionsflüssigkeit im Kanal so zusammenwirkt, dass suspendierte Teilchen mit verschiedenen passiven elektrischen Eigenschaften die Sortierelektroden je nach ihren Eigenschaften auf getrennten Bahnen passieren können.

7. Mikrosystem gemäß Anspruch 2, in dem an gegenüberliegenden Kanalwänden mindestens zwei Mikroelektroden (61a-e, 611a-e, 612a, 71a, 71b, 711a) gleicher Gestalt und Ausrichtung vorgesehen sind, die jeweils einen stromabwärts geschlossenen Winkelabschnitt aufweisen.

8. Mikrosystem gemäß Anspruch 7, in dem die Mikroelektroden als Fangelektroden (61a-e, 611a-e, 612a, 71a, 71b, 711a) zusammenwirken.

9. Mikrosystem gemäß Anspruch 7 oder 8, in dem eine Gruppe von Fangelektroden (61a-e, 611a-e, 612a, 71a, 71b, 711a) in Kanalquerrichtung angeordnet sind.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

10. Mikrosystem gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, in dem die Mikroelektroden paarweise jeweils auf den Boden- und Deckflächen des Kanals angeordnet sind.

11. Mikrosystem gemäß Anspruch 1, in dem zwei Mikroelektroden an gegenüberliegenden Kanalwänden vorgesehen sind, die verschiedene geometrische Formen besitzen.

12. Mikrosystem gemäß Anspruch 11, in dem der Kanal eine rechteckige Querschnittsgestalt besitzt und die Mikroelektroden an den schmaleren Seitenflächen angebracht sind und eine flächige Mikroelektrode auf einer Seitenfläche und eine bandförmige Mikroelektrode auf der gegenüberliegenden Seitenfläche umfassen.

13. Mikrosystem gemäß Anspruch 12, in dem die flächige Mikroelektrode (91) erdfrei angeordnet ist.

14. Mikrosystem gemäß Anspruch 12 oder 13, in dem der Kanal (21) durch eine Trennwand in zwei Teilkanäle (211, 212) getrennt ist, wobei die Trennwand im Bereich der gegenüberliegend angeordneten Mikroelektroden eine Öffnung (232) aufweist.

15. Mikrosystem gemäß Anspruch 1, in dem drei Mikroelektroden vorgesehen sind, von denen zwei Mikroelektroden als Fokussierelektroden (41a-d) in Form von zu einer Mittellinie konvergierenden, bandförmigen Elektroden an den Boden- und Deckflächen des Kanals angebracht und eine dritte Mikroelektrode als feldformende Hilfselektrode (47) mit Abstand von den Boden- und Deckflächen in der Mitte des Kanals angeordnet ist.

16. Mikrosystem gemäß Anspruch 15, in dem der Kanal (211, 212) durch eine Trennwand (231) in zwei Teilkanäle mit einer Öff-

THIS PAGE BLANK (USPTO)

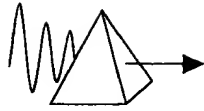
nung stromaufwärts in Bezug auf die Hilfselektrode (103) geteilt ist.

17. Mikrosystem gemäß Anspruch 1, in dem an einer Kanalwand eine quaderförmige Sammelelektrode (121) mit einer Vielzahl von Reservoirien (121a) angeordnet ist, die mit einer Ablenkelektrode (122) auf der gegenüberliegenden Kanalwand zur Ablenkung von Teilchen (30) in die Reservoirie (121a) zusammenwirkt.

18. Mikrosystem gemäß Anspruch 1, in dem an einer Kanalwand (21a) eine Vielzahl von quaderförmigen, voneinander beabstandeten Teilelektroden (111) vorgesehen sind, die mit einer auf der gegenüberliegenden Kanalwand angeordneten Ablenkelektrode (112) zur Ablenkung von Teilchen (30b) in die Abstände zwischen den quaderförmigen Teilelektroden (111) eingerichtet ist.

19. Verwendung eines Mikrosystems gemäß einem der Ansprüche 1 bis 18 zum Ablenken, Sortieren, Sammeln und/oder Formieren von mikroskopisch kleinen Teilchen.

THIS PAGE BLANK (USPTO)



v. Bezold & Sozien
Patentanwälte

v. Bezold & Sozien · Akademiestr. 7 · D-80799 München

Europäisches Patentamt
Erhardtstraße 27

D-80298 München

Dieter v. Bezold
Dr. rer. nat.
Peter Schütz
Dipl.-Ing.
Wolfgang Heusler
Dipl.-Ing.
Oliver Hertz
Dr. rer. nat., Dipl.-Phys.
Jutta Draudt
Dr. rer. nat., Dipl.-Chem.
Patentanwälte
European Patent and
Trademark Attorneys

Akademiestr. 7
D-80799 München
Tel.: +49-89-38 999 80
Fax: +49-89-38 999 850
eMail: info@sombez.com

18. September 2000

Aktenzeichen: PCT/EP99/04470
Anmelder: EVOTEC BioSystems AG et al.
Unser Zeichen: 14839/PCT Hz/ap

Auf den amtlichen Bescheid vom 18.05.2000:

Hiermit werden die neuen Patentansprüche 1 bis 19 eingereicht, die die bisher geltenden Patentansprüche 1 bis 20 im weiteren Verfahren ersetzen sollen. Des Weiteren wird auch eine neue Beschreibungsseite 3 eingereicht, die die ursprüngliche Beschreibungsseite 3 ersetzen soll. Es wird um Erstellung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts auf der Grundlage der geänderten Unterlagen gebeten.

Die Ansprüche wurden wie folgt geändert. Die neuen Ansprüche sind sämtlich auf ein Mikrosystem gerichtet. Diese Änderung stützt sich insbesondere auf den ursprünglichen Anspruch 19. Anspruch 1 wurde gegenüber Entgegenhaltung D1 (Fiedler et al.)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

abgegrenzt und klargestellt. Der Begriff „Bezugsfläche“ wurde gestrichen. Der Begriff „Krümmung“ wurde durch „Krümmungsverlauf“ ersetzt. Die Änderungen stützen sich auf die Beschreibung (Seite 13, Absatz 2, und Seite 4, Absatz 1, letzter Satz). Die Ansprüche 3 und 5 wurden auf der Grundlage der Beschreibung (Seite 12, Absatz 2) umformuliert. Anspruch 15 wurde auf der Grundlage der Beschreibung (Seite 25, Absatz 2) und der Figur 10 klargestellt. Der bisher geltende Anspruch 19 wurde gestrichen. Es wurden Bezugszeichen eingefügt.

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Mikrosystem zur dielektrophoretischen Manipulierung von Teilchen in einer Suspensionsflüssigkeit. Ein gattungsgemäßes Mikrosystem ist bspw. aus Entgegenhaltung D1 bekannt. Die herkömmlichen Mikrosysteme besitzen eine Reihe von Nachteilen hinsichtlich der Erzeugung von Polarisationskräften und der Stabilität, Lebensdauer und Funktionalität der Mikroelektroden (siehe Beschreibung, Seite 2, Absatz 2). Die Nachteile herkömmlicher Mikrosysteme ergaben sich insbesondere aus der geraden Elektrodengestaltung, die auch bei dem Mikrosystem gemäß Entgegenhaltung D1 vorgesehen ist (siehe bspw. Figur 2A).

Mit Blick auf die genannten Nachteile wird die Aufgabe der Erfindung weiter in der Schaffung verbesserter fluidischer Mikrosysteme gesehen (siehe Beschreibung, Seite 3, Absatz 2).

Erfindungsgemäß ist vorgesehen, ein herkömmliches Mikrosystem dahingehend weiterzubilden, dass die mindestens eine Mikroelektrode eine derartige Form besitzt, dass eine Feldbarriere mit einem vorbestimmten Krümmungsverlauf relativ zur Strömungsrichtung in einem Kanal des Mikrosystems gebildet wird. Erfindungsgemäß wird von der herkömmlichen Technik unter Verwendung gerader Mikroelektroden abgegangen, es werden statt dessen Mikroelektroden eingeführt, die eine gekrümmte Feldbarriere erzeugen. Hierzu sind verschiedene Alternativen vorgesehen. Bspw. besitzt die Mikroelektrode selbst einen bestimmten stetigen

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Krümmungsverlauf, oder sie besteht aus mehreren geraden Elektrodenabschnitten mit vorbestimmten Winkeln in Bezug auf die Strömungsrichtung.


Ein Mikrosystem mit den Merkmalen gemäß Anspruch 1 ist aus Entgegenhaltung D1 nicht bekannt, da die in Entgegenhaltung D1 gezeigten Mikroelektroden keine gekrümmten Feldbarrieren bilden können. Dies gilt sowohl für die „Trichterelektroden“, bei denen gerade Elektrodenbänder verwendet werden, als auch bspw. für die in Figur 4B gezeigte Elektrode. Die Elektrodenbänder der „Trichterelektroden“ besitzen einen konstanten Winkel relativ zur Strömungsrichtung, also keine Krümmung. Dies gilt auch für die in Figur 4B gezeigte Elektrode, die Feldbarrieren bildet, mit denen Teilchenaggregate aufgebrochen und/oder Teilchen aufgereiht werden sollen. Diese Feldbarrieren verlaufen senkrecht zur Strömungsrichtung zwischen den Elektrodenvorsprüngen, also nicht mit einer bestimmten Krümmung.

Die Neuheit ist auch gegenüber Entgegenhaltung D2 gegeben, da diese lediglich gerade gebildete Mikroelektroden zeigt.

Zur Erfindungshöhe ist darauf hinzuweisen, dass in keiner der Entgegenhaltungen ein Hinweis oder eine Anregung gegeben wird, von den herkömmlichen geraden Mikroelektroden zu gekrümmten Mikroelektroden oder Mikroelektroden mit Elektrodenabschnitten überzugehen, die eine gekrümmte Feldbarriere erzeugen. Allein die seit Jahren übliche Verwendung gerader Mikroelektroden zeigt, dass es sich bei der Erfindung nicht um eine routinemäßige Abwandlung handelt. Die Wirkung der Elektrodenkrümmung wurde vor der Erfindung eben nicht erkannt und damit auch von Fachleuten nicht in Betracht gezogen. Die Erfindungshöhe wird auch durch die zahlreichen Vorteile der Erfindung gestützt, die bspw. in der Beschreibung (Seite 5, ab Absatz 3) erläutert sind.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Nachdem die Unterlagen überarbeitet und die Patentfähigkeit begründet wurden, wird um einen positiven internationalen vorläufigen Prüfungsbericht gebeten.



Dr. Oliver Hertz
Patentanwalt

Anlage:

Ansprüche 1 bis 19 (dreifach)

Beschreibungsseite 3 (dreifach)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PATENTANSPRÜCHE 1 bis 19

1. Mikrosystem (20), das zur dielektrophoretischen Manipulierung von Teilchen (30, 30a, 30b) in einer Suspensionsflüssigkeit in einem Kanal (21, 211, 212) eingerichtet ist und eine Elektrodenanordnung (10) mit mindestens einer Mikroelektrode (11, 11a-e, 12, 41a-f, 47, 51a, 51b, 511b, 512b, 61a-e, 612a, 71a, 71b, 711a) auf einer seitlichen Wand (21a, 21b, 23) des Kanals zur Erzeugung einer Feldbarriere enthält, die den Kanal zumindest teilweise durchsetzt,

dadurch gekennzeichnet, dass

die Mikroelektrode in Bezug auf die Strömungsrichtung im Kanal einen vorbestimmten stetigen Krümmungsverlauf besitzt oder aus einer Vielzahl jeweils gerader Elektrodenabschnitte mit vorbestimmten Winkeln in Bezug auf die Strömungsrichtung besteht, so dass die Feldbarriere einen vorbestimmten Krümmungsverlauf relativ zur Strömungsrichtung besitzt.

2. Mikrosystem gemäß Anspruch 1, in dem die Elektrodenanordnung mindestens zwei an gegenüberliegenden Kanalwänden angebrachte Mikroelektroden (11, 12) gleicher Gestalt und Ausrichtung umfasst, die jeweils die Form eines gekrümmten Bandes besitzen.

3. Mikrosystem gemäß Anspruch 2, in dem die Mikroelektroden (11a-e, 41a-f) in Abhängigkeit vom Strömungsprofil so gekrümmt sind, dass in jedem Abschnitt der Feldbarriere der Mikroelektrode die auf ein Teilchen wirkende, aus Polarisations- und Strömungskräften resultierende Kraft in einen Bereich weist, der stromaufwärts in Bezug auf die Mikroelektrode gelegen ist.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

4. Mikrosystem gemäß Anspruch 3, in dem vier Mikroelektroden als Fokussierelektroden (11a-e) zur Bildung eines Partikeltrichters angeordnet sind.

5. Mikrosystem gemäß Anspruch 2, in dem die Mikroelektroden (11a-e, 41a-f) in Abhängigkeit vom Strömungsprofil so gekrümmt sind, dass die auf ein Teilchen wirkende aus Polarisations- und Strömungskräften resultierende Kraft von einem Ende der Mikroelektrode hin zum anderen Ende eine Richtungsänderung durchläuft, die von einer Richtung in einen in Bezug auf die Mikroelektrode stromabwärts gelegenen Bereich zu einer Richtung in einen in Bezug auf die Mikroelektrode stromaufwärts gelegenen Bereich führt.

6. Mikrosystem gemäß Anspruch 5, in dem zwei Mikroelektroden als Sortierelektroden (11a-e, 41a-f) vorgesehen sind, deren Feldbarriere mit dem Strömungsprofil der Suspensionsflüssigkeit im Kanal so zusammenwirkt, dass suspendierte Teilchen mit verschiedenen passiven elektrischen Eigenschaften die Sortierelektroden je nach ihren Eigenschaften auf getrennten Bahnen passieren können.

7. Mikrosystem gemäß Anspruch 2, in dem an gegenüberliegenden Kanalwänden mindestens zwei Mikroelektroden (61a-e, 611a-e, 612a, 71a, 71b, 711a) gleicher Gestalt und Ausrichtung vorgesehen sind, die jeweils einen stromabwärts geschlossenen Winkelabschnitt aufweisen.

8. Mikrosystem gemäß Anspruch 7, in dem die Mikroelektroden als Fangelektroden (61a-e, 611a-e, 612a, 71a, 71b, 711a) zusammenwirken.

9. Mikrosystem gemäß Anspruch 7 oder 8, in dem eine Gruppe von Fangelektroden (61a-e, 611a-e, 612a, 71a, 71b, 711a) in Kanalquerrichtung angeordnet sind.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

10. Mikrosystem gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, in dem die Mikroelektroden paarweise jeweils auf den Boden- und Deckflächen des Kanals angeordnet sind.

11. Mikrosystem gemäß Anspruch 1, in dem zwei Mikroelektroden an gegenüberliegenden Kanalwänden vorgesehen sind, die verschiedene geometrische Formen besitzen.

12. Mikrosystem gemäß Anspruch 11, in dem der Kanal eine rechteckige Querschnittsgestalt besitzt und die Mikroelektroden an den schmaleren Seitenflächen angebracht sind und eine flächige Mikroelektrode auf einer Seitenfläche und eine bandförmige Mikroelektrode auf der gegenüberliegenden Seitenfläche umfassen.

13. Mikrosystem gemäß Anspruch 12, in dem die flächige Mikroelektrode (91) erdfrei angeordnet ist.

14. Mikrosystem gemäß Anspruch 12 oder 13, in dem der Kanal (21) durch eine Trennwand in zwei Teilkanäle (211, 212) getrennt ist, wobei die Trennwand im Bereich der gegenüberliegend angeordneten Mikroelektroden eine Öffnung (232) aufweist.

15. Mikrosystem gemäß Anspruch 1, in dem drei Mikroelektroden vorgesehen sind, von denen zwei Mikroelektroden als Fokussierelektroden (41a-d) in Form von zu einer Mittellinie konvergierenden, bandförmigen Elektroden an den Boden- und Deckflächen des Kanals angebracht und eine dritte Mikroelektrode als feldformende Hilfselektrode (47) mit Abstand von den Boden- und Deckflächen in der Mitte des Kanals angeordnet ist.

16. Mikrosystem gemäß Anspruch 15, in dem der Kanal (211, 212) durch eine Trennwand (231) in zwei Teilkanäle mit einer Öff-

THIS PAGE BLANK (USPTO)

nung stromaufwärts in Bezug auf die Hilfselektrode (103) geteilt ist.

17. Mikrosystem gemäß Anspruch 1, in dem an einer Kanalwand eine quaderförmige Sammelelektrode (121) mit einer Vielzahl von Reservoirien (121a) angeordnet ist, die mit einer Ablenkelektrode (122) auf der gegenüberliegenden Kanalwand zur Ablenkung von Teilchen (30) in die Reservoirie (121a) zusammenwirkt.

18. Mikrosystem gemäß Anspruch 1, in dem an einer Kanalwand (21a) eine Vielzahl von quaderförmigen, voneinander beabstandeten Teilelektroden (111) vorgesehen sind, die mit einer auf der gegenüberliegenden Kanalwand angeordneten Ablenkelektrode (112) zur Ablenkung von Teilchen (30b) in die Abstände zwischen den quaderförmigen Teilelektroden (111) eingerichtet ist.

19. Verwendung eines Mikrosystems gemäß einem der Ansprüche 1 bis 18 zum Ablenken, Sortieren, Sammeln und/oder Formieren von mikroskopisch kleinen Teilchen.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

der Kanalstruktur oder die Ablenkung von Teilchen aus einer gegebenen Strömung beschränkt.

Die Aufgabe der Erfindung ist es, verbesserte ~~Elektrodenanordnungen für~~ ^{zur} Mikrosysteme mit dielektrophoretischen Teilchenablenkung zu schaffen, mit denen die Nachteile herkömmlicher Mikrosysteme überwunden werden und die insbesondere einen erweiterten Anwendungsbereich besitzen und ermöglichen, auch über kürzere Kanalabschnitte wirksame Feldbarrieren zu erzeugen. Die Aufgabe der Erfindung ist es auch, neuartige ~~Mikrosysteme, die mit derart verbesserten Elektrodenanordnungen ausgestattet sind, und~~ Anwendungen derartiger Mikrosysteme anzugeben.

^{ein Mikrosystem}
Diese Aufgabe wird durch ~~Elektrodenanordnungen~~ mit den Merkmalen gemäß dem Patentanspruch 1 gelöst. Vorteilhafte Ausführungsformen und Anwendungen der Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

^{5) Mikrosystem}
Eine ~~erfindungsgemäße Elektrodenanordnung~~ ist insbesondere dazu eingerichtet, ~~in einem~~ ^{in einem} Mikrosystem Feldbarrieren entlang vorbestimmter Bezugsflächen zu erzeugen, die sich zumindest teilweise über die Breite eines Kanals im Mikrosystem erstrecken und vorbestimmte Krümmungen relativ zur Längsausdehnung des Kanals, zur Strömungsrichtung der Suspensionsflüssigkeit im Kanal oder zur Bewegungsrichtung der (nicht abgelenkten) Teilchen besitzen. Mit dem Begriff "Bezugsfläche" wird in diesem Zusammenhang nicht nur ein zweidimensionales Gebilde bezeichnet, sondern ein Raumbereich, auf den sich die Feldwirkung der jeweiligen Mikroelektroden erstreckt und in dem die Feldbarriere zur dielektrischen Beeinflussung der mikroskopischen Teilchen im Mikrosystem ausgebildet ist. Dieser Raumbereich entspricht im wesentlichen einem Bereich, der von den Feldlinien der wirksamen Mikroelektroden durchsetzt wird, und erstreckt sich bei zusammenwirkenden Mikroelektrodenpaaren als

THIS PAGE BLANK (USPTO)



v. Bezold & Sozien
Patentanwälte

v. Bezold & Sozien · Akademiestr. 7 · D-80799 München

Europäisches Patentamt
Erhardtstraße 27
D-80298 München

Dieter v. Bezold
Dr. rer. nat.

Peter Schütz
Dipl.-Ing.

Wolfgang Heusler
Dipl.-Ing.

Oliver Hertz
Dr. rer. nat., Dipl.-Phys.

Jutta Draudt
Dr. rer. nat., Dipl.-Chem.

Patentanwälte
European Patent and
Trademark Attorneys

Akademiestr. 7
D-80799 München


Tel.: +49-89-38 999 80
Fax: +49-89-38 999 850
eMail: info@sombez.com

25. April 2000

Aktenzeichen: PCT/EP99/04470
Anmelder: EVOTEC BioSystems AG et al.
Unser Zeichen: 14839/PCT Hz/Ri

Auf die amtliche Mitteilung vom 23. März 2000:

Hiermit werden die neuen Patentansprüche 1 bis 20 eingereicht,
die die bisher geltenden Patentansprüche im Verfahren der in-
ternationalen vorläufigen Prüfung ersetzen sollen.


Dr. Oliver Hertz
Patentanwalt

Anlage

Ansprüche 1 bis 20 (3-fach)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PATENTANSPRÜCHE 1 bis 20

1. Elektrodenanordnung in einem Mikrosystem, das zur dielektrophoretischen Manipulierung von Teilchen in einer Suspensionsflüssigkeit in einem Kanal eingerichtet ist, wobei mindestens eine Mikroelektrode auf einer seitlichen Wand des Kanals zur Erzeugung einer Feldbarriere entlang einer Bezugsfläche angeordnet ist, die den Kanal zumindest teilweise durchsetzt,

dadurch gekennzeichnet, daß

die Mikroelektrode eine vorbestimmte Krümmung oder vorbestimmte Winkel in Bezug auf die Strömungsrichtung im Kanal besitzt, so daß die Bezugsfläche eine vorbestimmte Krümmung relativ zur Strömungsrichtung besitzt.

2. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 1, bei der die Elektrodenanordnung mindestens zwei an gegenüberliegenden Kanalwänden angebrachte Mikroelektroden gleicher Gestalt und Ausrichtung umfaßt, die jeweils die Form eines gekrümmten Bandes besitzen.

3. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 2, bei der die Mikroelektroden in Abhängigkeit vom Strömungsprofil so gekrümmt sind, daß in jedem Abschnitt der Feldbarriere der Mikroelektrode die auf ein Teilchen wirkende resultierende Kraft in einen Bereich weist, der stromaufwärts in Bezug auf die Mikroelektrode gelegen ist.

4. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 3, bei der vier Mikroelektroden als Fokussierelektroden zur Bildung eines Partikeltrichters angeordnet sind.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

5. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 2, bei der die Mikroelektroden so gekrümmt sind, daß die auf ein Teilchen wirkende resultierende Kraft von einem Ende der Mikroelektrode hin zum anderen Ende eine Richtungsänderung durchläuft, die von einer Richtung in einen in Bezug auf die Mikroelektrode stromabwärts gelegenen Bereich zu einer Richtung in einen in Bezug auf die Mikroelektrode stromaufwärts gelegenen Bereich führt.

6. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 5, bei der zwei Mikroelektroden als Sortierelektroden vorgesehen sind, deren Feldbarriere mit dem Strömungsprofil der Suspensionsflüssigkeit im Kanal so zusammenwirkt, daß suspendierte Teilchen mit verschiedenen passiven elektrischen Eigenschaften die Sortierelektroden je nach ihren Eigenschaften auf getrennten Bahnen passieren können.

7. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 2, bei der an gegenüberliegenden Kanalwänden mindestens zwei Mikroelektroden gleicher Gestalt und Ausrichtung vorgesehen sind, die jeweils einen stromabwärts geschlossenen Winkelabschnitt aufweisen.

8. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 7, bei der die Mikroelektroden als Fangelektroden zusammenwirken.

9. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 7 oder 8, bei der eine Gruppe von Fangelektroden in Kanalquerrichtung angeordnet sind.

10. Elektrodenanordnung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei der die Mikroelektroden paarweise jeweils auf den Boden- und Deckflächen des Kanals angeordnet sind.

11. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 1, bei der zwei Mikroelektroden an gegenüberliegenden Kanalwänden vorgesehen sind, die verschiedene geometrische Formen besitzen.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

12. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 11, bei der der Kanal eine rechteckige Querschnittsgestalt besitzt und die Mikroelektroden an den schmalen Seitenflächen angebracht sind und eine flächige Mikroelektrode auf einer Seitenfläche und eine bandförmige Mikroelektrode auf der gegenüberliegenden Seitenfläche umfassen.
13. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 12, bei der die flächige Mikroelektrode erdfrei angeordnet ist.
14. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 12 oder 13, bei der der Kanal durch eine Trennwand in zwei Teilkanäle getrennt ist, wobei die Trennwand im Bereich der gegenüberliegend angeordneten Mikroelektroden eine Öffnung aufweist.
15. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 1, bei der drei Mikroelektroden vorgesehen sind, von denen zwei Mikroelektroden als Fokussierelektroden an den Boden- und Deckflächen des Kanals angebracht und eine dritte Mikroelektrode als Hilfselektrode mit Abstand von den Boden- und Deckflächen in der Mitte des Kanals angeordnet ist.
16. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 15, bei der der Kanal durch eine Trennwand in zwei Teilkanäle mit einer Öffnung stromaufwärts in Bezug auf die Hilfselektrode geteilt ist.
17. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 1, bei der an einer Kanalwand eine quaderförmige Sammelelektrode mit einer Vielzahl von Reservoirien angeordnet ist, die mit einer Ablenkelektrode auf der gegenüberliegenden Kanalwand zur Ablenkung von Teilchen in die Reservoirien zusammenwirkt.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

18. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 1, bei der an einer Kanalwand eine Vielzahl von quaderförmigen, voneinander beabstandeten Teilelektroden vorgesehen sind, die mit einer auf der gegenüberliegenden Kanalwand angeordneten Ablenkelektrode zur Ablenkung von Teilchen in die Abstände zwischen den quaderförmigen Teilelektroden eingerichtet ist.

19. Mikrosystem, das mit einer Elektrodenanordnung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche ausgestattet ist.

20. Verwendung einer Elektrodenanordnung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 18 zum Ablenken, Sortieren, Sammeln und/oder Formieren von mikroskopisch kleinen Teilchen.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

HERTZ, Oliver
v. Bezold & Sozien
Akademiestrasse 7
D-80799 München
ALLEMAGNE

| | |
|--|---|
| Date of mailing (day/month/year) 22 March 2000 (22.03.00) | IMPORTANT NOTIFICATION |
| Applicant's or agent's file reference 14839/PCT Ri | |
| International application No. PCT/EP99/04470 | International filing date (day/month/year) 28 June 1999 (28.06.99) |

| | | |
|---|---|---|
| 1. The following indications appeared on record concerning: | | |
| <input type="checkbox"/> the applicant | <input type="checkbox"/> the inventor | <input checked="" type="checkbox"/> the agent |
| <input type="checkbox"/> the common representative | | |
| Name and Address HERTZ, Oliver v. Bezold & Sozien Brienner Strasse 52 D-80333 München Germany | State of Nationality | State of Residence |
| | Telephone No. 089/524001 | |
| | Facsimile No. 089/526898 | |
| | Teleprinter No. | |
| 2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning: | | |
| <input type="checkbox"/> the person | <input type="checkbox"/> the name | <input checked="" type="checkbox"/> the address |
| <input type="checkbox"/> the nationality | | |
| <input type="checkbox"/> the residence | | |
| Name and Address HERTZ, Oliver v. Bezold & Sozien Akademiestrasse 7 D-80799 München Germany | State of Nationality | State of Residence |
| | Telephone No. 089/38.99.80 | |
| | Facsimile No. 089/38.99.98.50 | |
| | Teleprinter No. | |
| 3. Further observations, if necessary: The change in the agent's address in the demand has been considered as a request for change under Rule 92bis. In case of disagreement, the applicant should immediately notify the International Bureau accordingly. | | |
| 4. A copy of this notification has been sent to: | | |
| <input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office | <input type="checkbox"/> the designated Offices concerned | |
| <input type="checkbox"/> the International Searching Authority | <input checked="" type="checkbox"/> the elected Offices concerned | |
| <input checked="" type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority | <input type="checkbox"/> other: | |

| | |
|---|---|
| The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland | Authorized officer Beate Giffo-Schmitt |
| Facsimile No.: (41-22) 740.14.35 | Telephone No.: (41-22) 338.83.38 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

| | |
|--|--|
| Date of mailing (day/month/year) 22 March 2000 (22.03.00) | |
| International application No. PCT/EP99/04470 | Applicant's or agent's file reference 14839/PCT-Ri |
| International filing date (day/month/year) 28 June 1999 (28.06.99) | Priority date (day/month/year) 26 June 1998 (26.06.98) |
| Applicant FUHR, Günter et al | |

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

14 January 2000 (14.01.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:
2. The election ☒ was
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

| | |
|---|---|
| The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35 | Authorized officer Beate Giffo-Schmitt Telephone No.: (41-22) 338.83.38 |
|---|---|

THIS PAGE BLANK (USPTO)

REPLACED BY
ART 34 AMDT

CLAIMS (as originally filed)

1. An electrode arrangement in a microsystem adapted for dielectrophoretic manipulation of particles in a suspension liquid in a channel, with at least one microelectrode being arranged on a lateral wall of the channel for generating a field barrier along a reference surface which covers the channel at least partly;
characterised in that
the microelectrode has a predetermined curvature or predetermined angles in relation to the direction of flow in the channel so that the reference surface has a predetermined curvature relative to the direction of flow.
2. The electrode arrangement according to claim 1, in which the electrode arrangement comprises at least two microelectrodes of the same shape and alignment affixed on opposite channel walls, said microelectrodes being in the shape of a curved band.
3. The electrode arrangement according to claim 2, in which the microelectrodes depending on the flow profile are curved such that in every section of the field barrier of the microelectrode the resulting force acting on a particle points to a region which is situated upstream in relation to the microelectrode.
4. The electrode arrangement according to claim 3, in which four microelectrodes are arranged as focussing electrodes to form a particle funnel.
5. The electrode arrangement according to claim 2, in which the microelectrodes are curved such that the

THIS PAGE BLANK (USPTO)

resulting force acting on a particle from one end of the microelectrode towards the other end describes a change in direction, which leads from a direction in a region situated downstream in relation to the microelectrode, to a direction in a region situated upstream in relation to the microelectrode.

6. The electrode arrangement according to claim 5, in which two microelectrodes are provided as sorting electrodes whose field barrier acts in combination with the flow profile of the suspension liquid in the channel such that suspended particles with different passive electrical characteristics can pass the sorting electrodes on separate tracks depending on their characteristics.
7. The electrode arrangement according to claim 2, in which on opposite channel walls at least two microelectrodes of the same shape and alignment are provided, each comprising an angle section closed in downstream direction.
8. The electrode arrangement according to claim 7, in which the microelectrodes act in combination as collector electrodes.
9. The electrode arrangement according to claim 7 or 8, in which one group of collector electrodes is arranged in cross direction of the channel.
10. The electrode arrangement according to one of the preceding claims, in which the microelectrodes are arranged in pairs on the bottom and cover surfaces of the channel.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

11. The electrode arrangement according to claim 1, in which two microelectrodes are provided on two opposite channel walls, comprising different geometric shapes.
12. The electrode arrangement according to claim 11, in which the cross-sectional shape of the channel is rectangular and the microelectrodes are attached to the narrower lateral surfaces and comprise an area-shaped microelectrode on one lateral surface and a band-shaped microelectrode on the opposite lateral surface.
13. The electrode arrangement according to claim 12, in which the area-shaped microelectrode is arranged so as to be floating.
14. The electrode arrangement according to claim 12 or 13, in which the channel is divided into two sub-channels by a separation wall, with the separation wall comprising an aperture in the region of the microelectrodes arranged on the opposite side.
15. The electrode arrangement according to claim 1, in which three microelectrodes are provided of which two microelectrodes are arranged as focussing electrodes on the bottom and cover surfaces of the channel, and the third microelectrode is arranged as an auxiliary electrode spaced apart from the bottom and cover surfaces in the middle of the channel.
16. The electrode arrangement according to claim 15, in which the channel is divided into two sub-channels by a separation wall with an aperture upstream in relation to the auxiliary electrode.
17. The electrode arrangement according to claim 1, in which on one channel wall a cuboid collecting

THIS PAGE BLANK (USPTO)

electrode with a multitude of reservoirs is arranged which acts in combination with a deflection electrode on the opposite channel wall for deflecting particles into the reservoirs.

18. The electrode arrangement according to claim 1, in which on one channel wall a multitude of cuboid partial electrodes spaced apart from each other are provided, which electrode arrangement comprises a deflection electrode arranged at the opposite channel wall so as to deflect particles into the spaces between the cuboid partial electrodes.
19. A microsystem comprising an electrode arrangement according to one of the preceding claims.
20. The use of an electrode arrangement according to one of claims 1 to 18 for deflecting, sorting, collecting and/or forming microscopic particles.
21. A method for manipulating particles in a fluidic microsystem (15, 24, 31) in which the particles (21, 22) are moved in a suspension liquid in a predetermined reference direction,
characterised in that
the microsystem (15, 24, 31), at least at its end (17a, 17b, 29a, 29b, 31d, 31e, 31f) pointing to the reference direction, is closed off;
the particles move at a speed set by predetermined centrifugal and/or gravitational forces, in the suspension liquid which is stationary in relation to the microsystem (15, 24, 31), with the centrifugal forces and/or gravitational forces extending essentially parallel to the reference direction; and
in that the particles in the microsystem (15, 24, 31) are exposed to deflection forces whose direction differs from the reference direction.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

22. The method according to claim 21, in which the microsystem (15, 24, 31) is attached to a swinging rotor centrifuge, with the particle movement at standstill of the oscillatory rotor centrifuge taking place as sedimentation under the influence of gravitational forces and, during operation of the swinging rotor centrifuge, under the effect of centrifugal forces.
23. The method according to claim 22, in which the deflection forces comprise electrical polarisation forces, optical forces, magnetic forces or ultrasonic forces.
24. The method according to claim 23, in which the rotational speed of the swinging rotor centrifuge is set such that the centrifugal forces acting on the particles are smaller than or equal to, the deflection forces.
25. The method according to claim 23, in which the rotational speed of the swinging rotor centrifuge is set such that the particles move sufficiently slowly for a deflection of the particles away from the reference direction to take place.
26. The method according to claim 23, in which the rotational speed of the swinging rotor centrifuge is regulated depending on the speed of the particles which is detected with an optical or electrical sensor.
27. The method according to one of the preceding claims, in which several particle movements under the effect of centrifugal forces take place in separate centrifugation steps, with an adjustment of the

THIS PAGE BLANK (USPTO)

microsystem to the changed orientation in relation to the centrifugal forces taking place between said centrifugation steps.

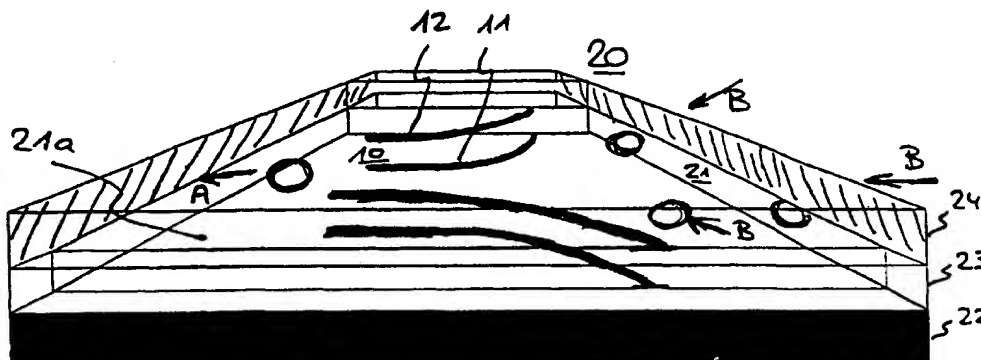
28. The method according to one of the preceding claims, in which the rotational speed of the swinging rotor centrifuge is selected depending on the size or density of the particles.
29. The method according to one of the preceding claims, in which the particles under the influence of buoyancy forces move in the direction opposite to the direction of the centrifugal forces and/or gravitational forces.
30. A microsystem (15, 24, 31) comprising at least one channel which extends from an input depot (16, 28) to channel ends (17a, 17b, 29a, 29b, 31d, 31e, 31f),
characterised in that
the microsystem (15, 24, 31) is adapted for affixation to the rotor of a centrifuge such that during centrifuge operation the centrifugal forces which act on the particles in the channel are essentially aligned parallel to the alignment of the channel, and that the ends (17a, 17b, 29a, 29b, 31d, 31e, 31f) of the channel are closed or closeable during operation of the centrifuge.
31. The microsystem according to claim 30, having a microelectrode device which comprises microelectrodes for generating field barriers in the microsystem.
32. The microsystem according to claim 31, in which the microelectrodes are arranged on the opposite longitudinal sides of the channel and are adapted for a high-frequency alternative voltage to be applied to them.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

33. The microsystem according to claim 32, in which the microelectrodes are band-shaped electrodes which extend transversely to the alignment of the channel and are equipped for generating field barriers in the channel.
34. The microsystem according to one of claims 30 to 33, which is affixed to the rotor of the centrifuge so as to be swivellable.
35. The microsystem according to one of the preceding claims 30 to 34, in which an electronic control of the microsystem is affixed to the rotor of the centrifuge.
36. The use of a method or a device according to one of the preceding claims for separation, fractionation, sorting, loading, unloading, permeation, fusion, pair formation and/or aggregate formation of synthetic particles and/or biological particles.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

| | | |
|--|-----------|---|
| (51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : B03C 5/02, G01N 15/04 | A1 | (11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/00293 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 6. Januar 2000 (06.01.00) |
| (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/04470 (22) Internationales Anmeldedatum: 28. Juni 1999 (28.06.99) (30) Prioritätsdaten: 198 28 626.0 26. Juni 1998 (26.06.98) DE 198 28 919.7 29. Juni 1998 (29.06.98) DE 198 53 658.5 20. November 1998 (20.11.98) DE 198 60 118.2 23. Dezember 1998 (23.12.98) DE <i>26 Dec 00/30 mus,</i> (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): EVOTEC BIOSYSTEMS AG [DE/DE]; Schnackenburgallee 114, D-22525 Hamburg (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): FUHR, Günter [DE/DE]; Kavalierstrasse 15, D-13187 Berlin (DE). SCHNELLE, Thomas [DE/DE]; Koppenstrasse 65, D-10243 Berlin (DE). HAGEDORN, Rolf [DE/DE]; Wartiner Strasse 16, D-13057 Berlin (DE). MÜLLER, Torsten [DE/DE]; Hartriegelstrasse 39, D-12439 Berlin (DE). (74) Anwalt: HERTZ, Oliver; v. Bezold & Sozien, Brienner Strasse 52, D-80333 München (DE). | | (81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i> |
| (54) Title: ELECTRODE ARRANGEMENT FOR GENERATING FUNCTIONAL FIELD BARRIERS IN MICROSYSTEMS (54) Bezeichnung: ELEKTRODENANORDNUNGEN ZUR ERZEUGUNG FUNKTIONELLER FELDBARRIEREN IN MIKROSYSTEMEN  (57) Abstract The invention relates to an electrode arrangement in a microsystem which is installed in a channel for dielectrophoretically manipulating particles in a suspension liquid. At least one microelectrode is located on a side wall of the channel in order to generate a field barrier along a reference surface, said reference surface passing through the channel at least partially. The microelectrode has a predetermined curvature or predetermined angle in relation to the direction of flow in the channel so that the reference surface has a predetermined curvature in relation to the direction of flow. According to one embodiment, the particles move in the microsystem due to the effect of the centrifugal and/or gravitational forces. | | |

(57) Zusammenfassung

Bei einer Elektrodenanordnung in einem Mikrosystem, das zur dielektrophoretischen Manipulierung von Teilchen in einer Suspensionsflüssigkeit in einem Kanal eingerichtet ist, wobei mindestens eine Mikroelektrode auf einer seitlichen Wand des Kanals zur Erzeugung einer Feldbarriere entlang einer Bezugsfläche angeordnet ist, die den Kanal zumindest teilweise durchsetzt, besitzt die Mikroelektrode eine vorbestimmte Krümmung oder vorbestimmte Winkel in Bezug auf die Strömungsrichtung im Kanal, so daß die Bezugsfläche eine vorbestimmte Krümmung relativ zur Strömungsrichtung besitzt. Gemäß einer Ausführungsform der Erfindung erfolgt die Teilchenbewegung im Mikrosystem unter der Wirkung von Zentrifugal- und/oder Gravitationskräften.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

| | | | | | | | |
|----|------------------------------|----|-----------------------------------|----|---|----|--------------------------------|
| AL | Albanien | ES | Spanien | LS | Lesotho | SI | Slowenien |
| AM | Armenien | FI | Finnland | LT | Litauen | SK | Slowakei |
| AT | Österreich | FR | Frankreich | LU | Luxemburg | SN | Senegal |
| AU | Australien | GA | Gabun | LV | Lettland | SZ | Swasiland |
| AZ | Aserbaidsschan | GB | Vereinigtes Königreich | MC | Monaco | TD | Tschad |
| BA | Bosnien-Herzegowina | GE | Georgien | MD | Republik Moldau | TG | Togo |
| BB | Barbados | GH | Ghana | MG | Madagaskar | TJ | Tadschikistan |
| BE | Belgien | GN | Guinea | MK | Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien | TM | Turkmenistan |
| BF | Burkina Faso | GR | Griechenland | | | TR | Türkei |
| BG | Bulgarien | HU | Ungarn | ML | Mali | TT | Trinidad und Tobago |
| BJ | Benin | IE | Irland | MN | Mongolei | UA | Ukraine |
| BR | Brasilien | IL | Israel | MR | Mauretanien | UG | Uganda |
| BY | Belarus | IS | Island | MW | Malawi | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| CA | Kanada | IT | Italien | MX | Mexiko | | |
| CF | Zentralafrikanische Republik | JP | Japan | NE | Niger | UZ | Usbekistan |
| CG | Kongo | KE | Kenia | NL | Niederlande | VN | Vietnam |
| CH | Schweiz | KG | Kirgisistan | NO | Norwegen | YU | Jugoslawien |
| CI | Côte d'Ivoire | KP | Demokratische Volksrepublik Korea | NZ | Neuseeland | ZW | Zimbabwe |
| CM | Kamerun | | | PL | Polen | | |
| CN | China | KR | Republik Korea | PT | Portugal | | |
| CU | Kuba | KZ | Kasachstan | RO | Rumänien | | |
| CZ | Tschechische Republik | LC | St. Lucia | RU | Russische Föderation | | |
| DE | Deutschland | LI | Liechtenstein | SD | Sudan | | |
| DK | Dänemark | LK | Sri Lanka | SE | Schweden | | |
| EE | Estland | LR | Liberia | SG | Singapur | | |

Elektrodenanordnungen zur Erzeugung funktioneller
Feldbarrieren in Mikrosystemen

Die Erfindung betrifft Elektrodenanordnungen zur Erzeugung funktioneller Feldbarrieren in Mikrosystemen, die zur Manipulierung suspendierter Teilchen eingerichtet sind, insbesondere funktionelle Mikroelektroden zur dielektrophoretischen Ablenkung von mikroskopischen Teilchen, und Mikrosysteme, die mit derartigen Elektrodenanordnungen ausgestattet sind sowie deren Verwendungen.

Die Manipulierung suspendierter Teilchen in fluidischen Mikrosystemen ist allgemein bekannt und wird beispielsweise von G. Fuhr et al. in "Naturwissenschaften", Bd. 81, 1994, S. 528 ff., beschrieben. Die Mikrosysteme bilden insbesondere Kanalstrukturen, die von einer Suspensionsflüssigkeit mit den zu manipulierenden Teilchen durchströmt werden. In der Regel besitzen diese Kanalstrukturen eine rechteckige Querschnittsfläche, wobei die in Betriebsposition unteren und oberen Kanalwände (Boden- und Deckflächen) eine größere Breite als die seitlichen Kanalwände (Seitenflächen) besitzen. In den Kanalstrukturen sind auf den Kanalwänden Mikroelektroden angebracht, die mit hochfrequenten elektrischen Feldern beaufschlagt werden. Unter der Wirkung der hochfrequenten elektrischen Felder werden in den suspendierten Teilchen auf der Basis negativer oder positiver Dielektrophorese Polarisationskräfte erzeugt, die eine Abstoßung von den Elektroden und in Zusammenarbeit mit Strömungskräften in der Suspensionsflüssigkeit eine Manipulierung der Teilchen im Kanal erlauben. Die Mikroelektroden herkömmlicher Mikrosysteme sind in der Regel auf den jeweils breiteren Kanalwänden als gerade Elektrodenbänder angebracht.

Zur Erzeugung der für die Dielektrophorese wirksamen hochfrequenten elektrischen Felder wirken jeweils zwei Elektrodenbänder zusammen, die an gegenüberliegenden Kanalwänden mit jeweils gleicher Gestalt und Ausrichtung angebracht sind. Die geraden Elektrodenbänder verlaufen beispielsweise parallel zur Kanalausrichtung bzw. Strömungsrichtung der Suspensionsflüssigkeit im jeweiligen Kanalabschnitt oder unter einem vorbestimmten Winkel schräg zur Kanalausrichtung. Die Elektrodenbänder besitzen zur wirksamen und sicheren Ausbildung der Polarisationskräfte an den zu manipulierenden Teilchen eine Länge, die die charakteristische Dimension der Teilchen um ein Vielfaches (Faktor rd. 20 bis 50) übersteigt.

Die herkömmlichen Mikrosysteme besitzen Nachteile in Bezug auf die Wirksamkeit der Erzeugung von Polarisationskräften, die Stabilität und Lebensdauer der Mikroelektroden und die eingeschränkte Fähigkeit, Kräftegradienten innerhalb der Kanalstruktur zu erzeugen. Diese Nachteile hängen insbesondere mit den über verhältnismäßig große Längen im Kanal gebildeten Elektrodenbändern zusammen. Je länger ein Elektrodenband ist, desto länger befindet sich ein vorbeiströmendes Teilchen im Wirkungsbereich des Elektrodenbandes, so daß auch die Wirksamkeit der jeweiligen Mikroelektrode bzw. der durch sie erzeugten Feldbarriere steigt. Andererseits sind die langen Elektrodenbänder auch störanfälliger. Durch Herstellungsfehler oder mechanische Beanspruchungen können Unterbrechungen auftreten, die zum Elektrodenausfall führen. Ferner wurden die Mikroelektroden bisher zur Erzielung einer über die Kanallänge gleichbleibenden und damit reproduzierbaren Kraftwirkung auf die genannte gerade Elektrodengestaltung beschränkt.

Aufgrund der genannten Nachteile ist auch der Einsatzbereich der genannten fluidischen Mikrosysteme mit dielektrophoretischer Teilchenmanipulierung auf die Führung der Teilchen in

der Kanalstruktur oder die Ablenkung von Teilchen aus einer gegebenen Strömung beschränkt.

Die Aufgabe der Erfindung ist es, verbesserte Elektrodenanordnungen für Mikrosysteme mit dielektrophoretischer Teilchenablenkung zu schaffen, mit denen die Nachteile herkömmlicher Mikrosysteme überwunden werden und die insbesondere einen erweiterten Anwendungsbereich besitzen und ermöglichen, auch über kürzere Kanalabschnitte wirksame Feldbarrieren zu erzeugen. Die Aufgabe der Erfindung ist es auch, neuartige Mikrosysteme, die mit derart verbesserten Elektrodenanordnungen ausgestattet sind, und Anwendungen derartiger Mikrosysteme anzugeben.

Diese Aufgabe wird durch Elektrodenanordnungen mit den Merkmalen gemäß dem Patentanspruch 1 gelöst. Vorteilhafte Ausführungsformen und Anwendungen der Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

Eine erfindungsgemäße Elektrodenanordnung ist insbesondere dazu eingerichtet, in einem Mikrosystem Feldbarrieren entlang vorbestimmter Bezugsflächen zu erzeugen, die sich zumindest teilweise über die Breite eines Kanals im Mikrosystem erstrecken und vorbestimmte Krümmungen relativ zur Längsausdehnung des Kanals, zur Strömungsrichtung der Suspensionsflüssigkeit im Kanal oder zur Bewegungsrichtung der (nicht abgelenkten) Teilchen besitzen. Mit dem Begriff "Bezugsfläche" wird in diesem Zusammenhang nicht nur ein zweidimensionales Gebilde bezeichnet, sondern ein Raumbereich, auf den sich die Feldwirkung der jeweiligen Mikroelektroden erstreckt und in dem die Feldbarriere zur dielektrischen Beeinflussung der mikroskopischen Teilchen im Mikrosystem ausgebildet ist. Dieser Raumbereich entspricht im wesentlichen einem Bereich, der von den Feldlinien der wirksamen Mikroelektroden durchsetzt wird, und erstreckt sich bei zusammenwirkenden Mikroelektrodenpaaren als

gekrümmte Hyperfläche zwischen den Mikroelektroden oder bei einzelnen wirkenden Mikroelektroden als Hyperfläche, die die Feldlinienverteilung der einzelnen wirkenden Mikroelektrode umspannt. Die Bezugsflächen definieren die Orte, an denen Polarisationskräfte in den mikroskopischen Teilchen wirksam erzeugt werden können. Die Mikroelektroden werden so ausgebildet, daß die Bezugsflächen je nach der angestrebten Funktion der jeweiligen Mikroelektroden eine vorbestimmte Krümmung in Bezug auf die Bewegungsrichtung der Teilchen im Mikrosystem besitzen, so daß eine optimale Zusammenwirkung der Polarisationskräfte und der mechanischen Kräfte erzielt wird. Daher werden die Feldbarrieren hier auch als funktionelle Feldbarrieren bezeichnet. Der hier benutzte Begriff "Krümmung" bezieht sich nicht auf die Krümmung von Feldlinien an geraden Mikroelektroden durch das Austreten der Feldlinien in den angrenzenden Raum. Die Krümmung bezeichnet vielmehr die Gestaltung der an Mikroelektroden ausgebildeten Feldbarrieren.

Die Feldbarrieren mit den erfindungsgemäß gekrümmten Bezugsflächen werden vorzugsweise nach einer der drei folgenden Grundformen gestaltet. Gemäß einer ersten Variante besteht eine erfindungsgemäße Elektrodenanordnung aus mindestens einer bandförmigen, gekrümmten Mikroelektrode, die sich auf der breiteren Kanalwand (Boden- und/oder Deckfläche) zumindest teilweise über die Kanalbreite erstreckt. Bei einer zweiten Variante ist mindestens eine Mikroelektrode vorgesehen, die an der schmaleren Kanalwand (Seitenfläche) angebracht ist. Bei der dritten Variante sind mindestens eine Mikroelektrode auf der Boden- und/oder Deckfläche des Kanals und mindestens eine Hilfselektrode mit Abstand von der Boden- oder Seitenfläche des Kanals angebracht. Die Hilfselektrode liefert eine Deformation der von der Mikroelektrode oder den Mikroelektroden an den Boden- bzw. Seitenflächen des Kanals ausgehenden Feldlinien, so daß die erfindungsgemäß gekrümmten Bezugsflächen gebildet werden. Bei allen Varianten können die jeweiligen Elektro-

den (Mikroelektroden, Hilfselektroden) an sich band- oder punktförmig oder flächig ausgebildet sein. Die Elektrodenanordnungen der zweiten und dritten Variante werden auch als dreidimensionale Elektrodenanordnungen bezeichnet, da dabei Mikroelektroden eingesetzt werden, die aus den Ebenen der Boden- oder Seitenflächen des Kanals herausragen oder von diesen mit Abstand angeordnet sind.

Gegenstand der Erfindung ist somit die Optimierung von Mikroelektroden in Bezug auf ihre Wirkung auf suspendierte Teilchen, die natürliche oder synthetische Teilchen umfassen können, z.B. zur Erzeugung maximaler Kräfte bei gleichzeitig minimierten elektrischen Verlusten.

Die Erfindung besitzt die folgenden Vorteile. Die Gestaltung der Mikroelektroden kann z.B. an das Strömungsprofil in der Suspensionsflüssigkeit angepaßt werden. Dies liefert den Vorteil, daß die Mikroelektroden kürzer ausgebildet werden und zur Erzeugung geringerer Barrieren ausgelegt sein können, jedoch die gleiche Effektivität wie herkömmliche Mikroelektroden in Form gerader Bänder besitzen. Dies wirkt sich vorteilhaft auf die Lebensdauer und Funktionstüchtigkeit der Mikroelektroden und somit der gesamten Mikrosysteme aus. Außerdem kann der in einem Mikrosystem verfügbare Platz effektiver genutzt werden. Es werden ferner Elektrodenanordnungen bereitgestellt, mit denen Gradienten und somit in Abhängigkeit vom jeweiligen Kanalbereich verschieden starke Kräfte erzeugt werden können. Es ist beispielsweise vorgesehen, daß die Feldbarrieren der Mikroelektroden so gestaltet sind, daß an den Teilchen in der Mitte des Kanals größere Polarisationskräfte ausgeübt werden als am Rand des Kanals.

Die erfindungsgemäße Ausbildung von Feldbarrieren entlang gekrümmter Bezugsflächen ermöglicht auch die Schaffung neuartiger Anwendungen von Mikrosystemen, insbesondere zum Lenken von

suspendierten Teilchen in bestimmte Kanalbereiche, zum Sortieren von suspendierten Teilchen nach ihren passiven elektrischen Eigenschaften oder zum Sammeln oder Haltern suspendierter Teilchen in bestimmten Kanalabschnitten. Zur letztgenannten Anwendung werden die Mikroelektroden mit einer geometrischen Ausformung zur Halterung der Teilchen in einem Lösungsstrom oder zur Erzeugung einer Teilchenformation ausgebildet. All die genannten Anwendungen liefern eine gegenüber dem Mikrosystem berührungsfreie Manipulierung der suspendierten Teilchen, was besonders wesentlich für die Manipulierung biologischer Zellen oder Zellbestandteile ist.

Bevorzugte Anwendungen liegen in der Mikrosystemtechnik zur Separation, Manipulierung, Beladung, Fusion, Permeation, Pärchenbilden und Aggregatformation von mikroskopisch kleinen Teilchen.

Gemäß einer besonderen Ausführungsform der Erfindung erfolgt die Teilchenbewegung in einem Mikrosystem mit herkömmlichen oder erfindungsgemäßen Elektrodenformen unter der Wirkung von Zentrifugal- und/oder Gravitationskräften.

Weitere Einzelheiten und Vorteile der Erfindung werden aus den im folgenden beschriebenen Zeichnungen ersichtlich. Es zeigen:

Fig. 1a bis 1d: schematische Perspektivansichten einer Kanalstruktur mit Mikroelektroden zur Erzeugung von Feldbarrieren in einem Mikrokanal und Beispiele erfindungsgemäß gekrümmter Bezugsflächen;

Fig. 2: eine schematische Draufsicht auf bandförmige, gekrümmte Mikroelektroden;

Fig. 3: eine schematische Draufsicht auf eine

abgewandelte Gestaltung bandförmiger,
gekrümmter Mikroelektroden;

- Fig. 4a bis 4c: schematische Ansichten zur Illustration von Sortierelektroden zur Teilchensortierung;
- Fig. 5a und 5b: schematische Ansichten von Mikroelektroden zur Erzeugung von Feldgradienten;
- Fig. 6a bis 6e: schematische Ansichten erfindungsgemäßer bandförmiger Fangelektroden;
- Fig. 7a bis 7c: weitere Ausführungsformen erfindungsgemäßer Fangelektroden;
- Fig. 8: eine Draufsicht auf verschiedene Elektrodenanordnungen zur Erzeugung von gekrümmten Feldbarrieren;
- Fig. 9: eine schematische Ansicht einer Elektrodenanordnung an Seitenwänden eines Kanals;
- Fig. 10 bis 12: verschiedene Ausführungsformen dreidimensionaler Elektrodenanordnungen;
- Fig. 13: eine schematische Draufsicht auf eine segmentierte Elektrodenanordnung; und
- Fig. 14 bis 16 weitere Ausführungsformen der Erfindung mit einem Mikrosystem mit Zentrifugal- und/oder Gravitationsantrieb der Teilchenbewegung.

Fig. 1a zeigt in schematischer Form beispielhaft die Ausführung von Mikroelektroden zur Erzeugung von Feldbarrieren in Mikrokanälen. Das fluidische Mikrosystem 20 ist ausschnittsweise in überhöht perspektivischer Seitenansicht einer Kanalstruktur dargestellt. Der Kanal 21 wird durch zwei mit Abstand auf einem Substrat 22 angeordnete Spacer 23 gebildet, die ein Deckteil 24 tragen. Die Kanalbreite und -höhe betragen rd. 200 μm bzw. 40 μm , können aber auch kleiner sein. Derartige Strukturen werden beispielsweise mit den an sich bekannten Prozessierungstechniken der Halbleitertechnologie hergestellt. Das Substrat 22 bildet die Bodenfläche 21a des Kanals 21. Dementsprechend wird die Deckfläche 21b (aus Übersichtlichkeitsgründen nicht gesondert hervorgehoben) durch das Deckteil 24 gebildet. Die Elektrodenanordnung 10 besteht aus Mikroelektroden 11, 12, die auf der Bodenfläche 21a bzw. auf der Deckfläche 21b angebracht sind. Jede der Mikroelektroden 11, 12 besteht aus gekrümmten Elektrodenbändern, die unten näher beschrieben werden.

In Fig. 1a bilden die Elektrodenbänder eine Elektrodenstruktur, die im einzelnen unten unter Bezug auf die Fig. 2 erläutert wird. Die anderen, im folgenden beschriebenen Ausführungsformen erfindungsgemäßer Elektrodenanordnungen können entsprechend auf den Boden-, Deck- und/oder Seitenflächen des Kanals 21 angebracht sein. Der Mikrokanal 21 wird von einer Suspensionsflüssigkeit durchströmt (im Bild von rechts nach links), in der Partikel 30 suspendiert sind. Die in Fig. 1a dargestellte Elektrodenanordnung 10 besitzt beispielsweise die Aufgabe, die Partikel 30 von verschiedenen Bewegungsbahnen innerhalb des Kanals auf eine mittlere Bewegungsbahn gemäß Pfeil A zu führen. Hierzu werden die Mikroelektroden 11, 12 derart mit elektrischen Potentialen beaufschlagt, daß sich im Kanal elektrische Feldbarrieren ausbilden, die die von rechts anströmenden Teilchen hin zur Kanalmitte (Pfeilrichtungen B) zwingen.

Die typischen Abmessungen der Mikroelektroden 11, 12 liegen bei einer Breite von 0,1 bis zu einigen zehn Mikrometern (typischerweise 5 ... 10 μm), einer Dicke von 100 nm bis zu einigen Mikrometern (typischerweise 200 nm) und einer Länge von bis zu mehreren hundert Mikrometern. Das Innere des Kanals 21 wird durch die auf der Ober- und Unterseite der Teile 23, 24 prozessierten Elektroden auf Grund der geringfügigen Dicke der Elektroden nicht eingeschränkt. Das Teil 23 ist ein Spacer, dessen Strukturierung die seitlichen Kanalwände bildet.

Die Mikroelektroden 11, 12 werden mittels hochfrequenter elektrischer Signale (typischerweise mit einer Frequenz im MHz-Bereich und einer Amplitude im Voltbereich) angesteuert. Die jeweils gegenüberliegenden Elektroden 11a, 11b bilden ein Ansteuerpaar, wenngleich auch die in einer Ebene liegenden Elektroden in ihrer Ansteuerung (Phase, Frequenz, Amplitude) zusammenwirken können. Das durch den Kanal 21, d.h. senkrecht zur Strömungsrichtung erzeugte elektrische Hochfrequenzfeld wirkt auf suspendierte Teilchen 30 (die auch lebende Zellen oder Viren sein können) polarisierend. Bei den genannten Frequenzen und geeigneter Leitfähigkeit der die Teilchen umgebenden Suspensionsflüssigkeit werden die Teilchen von den Elektroden abgestoßen. Damit läßt sich der hydrodynamisch offene Kanal 21 über die elektrischen Felder an- und abschaltbar strukturieren, kompartmentieren bzw. lassen sich die Bewegungsbahnen der Teilchen im passiven Strömungsfeld beeinflussen. Desweiteren ist es möglich, die Teilchen trotz permanenter Strömung zu retardieren bzw. auch ortsstabil ohne Berührung einer Oberfläche zu positionieren. Die Art und Ausführung der dazu gebildeten Elektrodenanordnungen ist auch Gegenstand der Erfindung.

Im folgenden werden Gestaltungsformen erfindungsgemäßer Elektrodenanordnungen beschrieben, wobei aus Übersichtlichkeitsgründen in den Figuren 2 bis 13 ggf. nur eine planare Elektrodenanord-

nung (oder Teile einer solchen), z.B. auf der Bodenfläche des Kanals, dargestellt ist.

Die Fign. 1b bis 1c zeigen die Grundformen von Feldbarrieren oder elektromagnetischen Begrenzungen, die mit erfindungsgemäßen Elektrodenanordnungen gemäß den obengenannten Varianten realisiert werden. Die Illustrationen sind Prinzipdarstellungen der Bezugsflächen, auf denen die Feldbarrieren mit erfindungsgemäßen Mikroelektroden ausgebildet werden. Aus Übersichtlichkeitsgründen sind jeweils nur Teile der Seitenfläche (Spacer 23) und der Bodenfläche 21a des Kanals, die Mikroelektroden 11, 12 und der Verlauf der Bezugsflächen (schraffiert) gezeigt.

Gemäß der obengenannten ersten Variante wird die Feldbarriere im Kanal zwischen zwei gekrümmten Mikroelektroden 11, 12 auf den Boden- bzw. Deckflächen des Kanals gebildet (Fig. 1b). Die Bezugsfläche der Feldbarriere (schraffiert dargestellt) verläuft entsprechend als gekrümmte, auf den Boden- und Deckflächen senkrecht stehende Fläche. Sind die Mikroelektroden 11, 12 beispielsweise entsprechend einem bestimmten hyperbolischen Strömungsprofil gekrümmt (s. unten), so bildet die Bezugsfläche den Ausschnitt der Mantelfläche eines hyperbolischen Zylinders. Falls die Mikroelektroden 11, 12 nicht genau übereinander angeordnet sind, so wird die Bezugsfläche auch noch in Bezug auf die Boden- und Deckflächen des Kanals schiefwinklig.

Gemäß Fig. 1c umspannt die schraffiert dargestellte Bezugsfläche einen Raumbereich, der von Feldlinien durchsetzt wird, die von einer Mikroelektrode 11 an einer Seitenfläche des Kanals zu einer Mikroelektrode 12 an der gegenüberliegenden Seitenfläche verlaufen. Beim dargestellten Beispiel besitzt die erste Mikroelektrode 11 eine größere Fläche als die zweite Mikroelektrode 12, so daß bei der letzteren eine Feldlinienkonzentration auftritt. Dadurch sind die von der Feldbarriere auf suspendierte Teilchen wirkenden Polarisationskräfte nahe

der zweiten Mikroelektrode 12 größer als nahe der ersten Mikroelektrode 11 (s. auch Fig. 9).

Die obengenannte dritte Variante mit einer dreidimensionalen Elektrodenanordnung ist in Fig. 1d illustriert. Die Mikroelektroden 11, 12 befinden sich auf den Boden- bzw. Deckflächen des Kanals, während die Hilfselektrode 13 mit einer geeigneten Halterung in der Kanalmitte angeordnet ist (s. auch Fig. 10). Durch die Hilfselektrode 13 werden die Feldlinien zwischen den Mikroelektroden 11, 12 verzerrt, so daß sich die schraffiert dargestellte, gekrümmte Bezugsfläche (teilweise gezeigt) ergibt.

Die illustrierten Bezugsflächen stellen lediglich die Position der Feldbarrieren dar, ohne auch die in den entsprechenden Bereichen wirkenden Kräfte, d.h. die Höhe der Feldbarrieren, zu illustrieren. Die wirkenden Kräfte hängen im wesentlichen von der Feldliniendichte und den passiven elektrischen Eigenschaften der zu manipulierenden Teilchen im jeweiligen Kanalbereich ab. Die erfindungsgemäßen funktionellen Feldbarrieren werden somit durch die geometrische Gestalt der zusammenwirkenden Mikroelektroden sowohl in Bezug auf deren Form (Krümmungen usw.), da die dielektrophoretischen Abstoßungskräfte im wesentlichen senkrecht auf den Bezugsflächen stehen, als auch in Bezug auf deren Flächen (Feldliniendichte) beeinflußt.

Eine erfindungsgemäße Elektrodenanordnung 10 entsprechend der obengenannten ersten Variante ist in Fig. 2 dargestellt. Auf der Bodenfläche 21a des seitlich durch die Spacer 23 begrenzten Kanals eines Mikrosystems sind Mikroelektroden 11a, 11b angeordnet. Die Mikroelektroden 11a, 11b werden über die Steuerleitungen 14 mit hochfrequenten elektrischen Potentialen beaufschlagt und wirken zur Bildung eines sogenannten Partikeltrichters wie folgt zusammen.

Die Elektrodenanordnung 10 ist dazu vorgesehen, die zunächst in der gesamten Kanalbreite bzw. dem gesamten Kanalvolumen anströmenden Teilchen 30a berührungslos auf eine Mittellinie des Kanals zu fokussieren, wie dies durch die Position des Teilchens 30b illustriert ist. Der Vorteil dieser Anordnung besteht in der Optimierung der Elektrodenbänder in Bezug auf die Sicherheit der Ablenkung (Fokussierung) der suspendierten Teilchen, die Verkürzung der Elektrodenanordnung in Kanallängsrichtung und die Verringerung der elektrischen Verluste an den Mikroelektroden.

Bei dieser Ausführungsform der Erfindung besteht die Grundidee der Gestaltung der Mikroelektroden darin, die Krümmung der durch die Feldbarriere gebildeten Bezugsflächen an die Strömungskräfte im Kanal anzupassen. In Mikrosystemen mit Kanaldimensionen unterhalb von 500 μm erfolgt nämlich wegen der bei diesen Dimensionen geringen Reynolds-Zahlen die Ausbildung laminarer Strömungen mit vorbestimmten Strömungsprofilen. Die Strömungsgeschwindigkeit in der Nähe der Kanalwände ist geringer als in der Kanalmitte (Strömungsgeschwindigkeit unmittelbar an der Kanalwand gleich Null). Dadurch treten in der Nähe der Kanalwände geringere Strömungskräfte als in der Kanalmitte auf. Dies ermöglicht eine Manipulierung der Teilchen am Kanalrand mit geringeren Polarisationskräften oder mit steiler gegen die Strömungskräfte gerichteten Polarisationskräften als in der Kanalmitte. Das Zusammenwirken der Strömungs- und Polarisationskräfte wird unten erläutert. Werden entlang der gesamten Länge der Mikroelektroden im wesentlichen gleiche Polarisationskräfte ausgebildet, so genügt es für eine sichere Ablenkung, daß die zu manipulierenden Teilchen am Kanalrand auf steiler in den Kanal ragende Mikroelektroden treffen als in der Kanalmitte. Dies erlaubt eine wesentliche Verkürzung der Mikroelektroden (s. unten).

Die auf die Teilchen wirkenden Kräfte sind in Fig. 2 beispielhaft in einzelnen Abschnitten der Mikroelektrode 11a illustriert. Die jeweilige Gesamtkraft setzt sich aus der elektrisch induzierten Abstoßungskraft F_P (Polarisationskraft) und der Antriebskraft F_S zusammen, die durch die Strömung der Suspensionsflüssigkeit oder auch von außen (z.B. in Zentrifugalsystemen als Zentrifugalkraft) ausgeübt wird. Die resultierende Gesamtkraft F_R ergibt sich durch Vektoraddition der Kräfte F_P und F_S . Schneidet der Vektor der Gesamtkraft F_R die Feldbarriere der Mikroelektrode 11a nicht, so wird ein Teilchen sicher abgelenkt. Die Kräfterdiagramme in Fig. 2 illustrieren, daß die Antriebskraft F_S hin zur Kanalmitte zunimmt. Zur Erfüllung der genannten Bedingung zur sicheren Teilchenablenkung ändert sich dementsprechend der Winkel zwischen der Ausrichtung der Mikroelektrode 11a und der Kanallängsrichtung von einem steileren Winkel am Kanalrand hin zu einem geringen Winkel (nahezu Parallelität) in Kanalmitte.

Die Mikroelektroden 11a, 11b sind somit in Abhängigkeit vom Strömungsprofil gekrümmt ausgebildet. Bei der dargestellten Ausführungsform besteht jede der bandförmigen Mikroelektroden aus einer Vielzahl jeweils gerader Elektrodenabschnitte. Bei einer abgewandelten Ausführungsform kann aber auch ein stetiger Krümmungsverlauf vorgesehen sein. Der Krümmungsverlauf ist entsprechend den in laminaren Strömungen auftretenden parabel- oder hyperbelförmigen Strömungsprofilen entsprechend auch parabel- oder hyperbelförmig.

Die Mikroelektroden 11a, 11b bilden erfindungsgemäß die Feldbarrieren entlang einer gekrümmten Bezugsfläche.

Die Mikroelektroden 11c, 11d sind in der Praxis nicht vorgesehen und dienen in der Darstellung dem Vergleich einer erfindungsgemäßen Anordnung von polygonal gekrümmten Mikroelektroden mit geraden Elektrodenbändern gleicher Ablenkleistung. Es

zeigt sich, daß die erfindungsgemäßen Mikroelektroden 11a, 11b deutlich kürzer sind.

Die in Fig. 2 gezeigten schmalen Elektrodenbänder sind gegenüber Herstellungsfehlern und lokalen Unterbrechungen sehr empfindlich. Ein Haarriß am Ansatz einer bandförmigen Mikroelektrode führt zum Ausfall der gesamten Mikroelektrode. Dem kann mit einer Elektrodengestaltung abgeholfen werden, die schematisch in Fig. 3 gezeigt ist. Die zu Fig. 3 beschriebene Strukturierungs- und Abdecktechnik kann auch bei den anderen Ausführungsformen der Erfindung implementiert werden.

Fig. 3 zeigt eine Mikroelektrode 11 mit einer Steuerleitung 14. Die Elektrode 11 besteht aus einer elektrisch leitenden Schicht 15, die eine elektrisch nichtleitende Isolations- oder Deckschicht 16 trägt. Die Isolationsschicht 16 besitzt eine Strukturierung in Form von Ausnehmungen, durch die die Schicht 15 freiliegt. In Fig. 3 ist die Isolationschicht 16 schraffiert und die (z.B. metallische) Schicht 15 schwarz gezeichnet. Die Strukturierung der Isolationsschicht erfolgt entsprechend der gewünschten Form von Mikroelektroden, die im dargestellten Beispiel zur Bildung eines Partikeltrichters wie in Fig. 2 eingerichtet sind. Die elektrischen Feldlinien treten von der metallischen Schicht 15 in den Kanal nur in den Bereichen der Ausnehmungen, so daß wiederum Feldbarrieren mit anwendungsabhängig gekrümmten Bezugsflächen gebildet werden. Diese Gestaltung besitzt den Vorteil, daß eine geringfügige Unterbrechung der freiliegenden Abschnitte der metallischen Schicht 15 (d.h. der Mikroelektrode) keinen Ausfall bedeutet, da über die restliche metallische Schicht 15 auch die übrigen freiliegenden Bereiche der Mikroelektrode mit den jeweiligen Potentialen beaufschlagt werden. Die Schicht 15 besitzt beispielsweise eine Dicke von rd. 50 nm bis zu einigen μm , typischerweise rd. 200 nm. Die Dicke der Isolationsschicht beträgt rd. 100 nm bis zu einigen μm . Die Isolationsschicht besteht vorzugsweise aus

biokompatiblen Materialien (z.B. Oxide, SiO_2 , SiNO_3 und dergleichen, Polymere, Tantalverbindungen oder dergleichen).

Eine weitere Ausführungsform einer erfindungsgemäßen Elektrodenanordnung 10 entsprechend der obengenannten ersten Variante wird im folgenden unter Bezug auf die Fign. 4a bis 4c erläutert. Eine wichtige Anwendung fluidischer Mikrosysteme besteht in der Sortierung der suspendierten Teilchen in Abhängigkeit von deren passiven elektrischen Eigenschaften (im folgenden auch als Polarisations-eigenschaften bei negativer Dielektrophorese bezeichnet). Die Polarisations-eigenschaften hängen von den dielektrischen Eigenschaften der Teilchen und deren Ausmaßen ab. Die dielektrischen Eigenschaften biologischer Zellen sind ein empfindlicher Indikator bestimmter Zelleigenschaften oder -veränderungen, die an sich etwa durch eine Größenbeobachtung nicht erfaßbar wären.

Eine Teilchensortierung in Abhängigkeit von ihren passiven elektrischen Eigenschaften basiert auf dem folgenden Prinzip. Ob ein Teilchen die von einer Sortierelektrode ausgebildete Feldbarriere passieren kann, hängt davon ab, ob die resultierende Kraft aus der Antriebskraft F_s und der Polarisationskraft F_p (s. oben) die Feldbarriere schneidet oder nicht. Weist die resultierende Gesamtkraft F_R durch die Feldbarriere hindurch, so bewegt sich das Teilchen in diese Richtung, d.h. die Sortierelektrode wird passiert. Weist die resultierende Kraft F_R jedoch in einen in Bezug auf die Sortierelektrode stromaufwärts gelegenen Bereich, so wird sich das Teilchen in diese Richtung bewegen und nicht die Sortierelektrode passieren können. Die resultierende Kraft F_R hängt, wie oben erläutert wurde, von der Strömungsgeschwindigkeit des Kanals und somit von der x-Position des Teilchens ab. Hin zur Kanalmitte nimmt die Strömungsgeschwindigkeit zu. Damit werden Teilchen mit relativ großer Polarisierbarkeit, die am Kanalrand die Sortierelektrode nicht passieren konnten, hin zur Kanalmitte einer stärkeren

Antriebskraft F_s ausgesetzt, so daß dann gegebenenfalls ein Vorbeitritt an der Sortierelektrode möglich ist. Die Änderung der Strömungsgeschwindigkeit in x-Richtung folgt dem Strömungsprofil und ist in der Regel nicht-linear. Dadurch würde sich bei Einsatz einer geraden Sortierelektrode ein nicht-lineares Trennverhalten ergeben. Dies wird durch die Implementierung erfindungsgemäß gekrümmter Feldbarrieren kompensiert. Hierzu werden Mikroelektroden 41a, 41b mit einer Krümmung in Abhängigkeit vom Strömungsprofil nach den unter Bezug auf Fig. 2 erläuterten Prinzipien eingesetzt.

Fig. 4a zeigt zwei Beispiele gekrümmter Mikroelektroden 41a, 41b auf der Bodenfläche 21a eines Kanals zwischen seitlichen Spacern 23. Der Kanal wird in y-Richtung von links nach rechts durchströmt, wobei die Pfeile v das Geschwindigkeits-Strömungsprofil im Kanal darstellen. Stromaufwärts vor der eigentlichen Sortierelektrode 41a oder 41b befindet sich eine geradlinige Mikroelektrode 47, deren Aufgabe darin besteht, die von links anströmenden Teilchen 30 auf eine Startlinie s zu fokussieren. Die Mikroelektrode 47 kann auch als Fokussierelektrode bezeichnet werden. Sie ist (wie dargestellt) als gerade, herkömmliche Ablenkelektrode oder auch gekrümmt ausgeführt. Stromabwärts von der Fokussierelektrode 47 ist eine der Sortierelektroden 41a oder 41b angeordnet, deren Aufgabe darin besteht, die anströmenden Teilchen 30 in Abhängigkeit von ihren Polarisierungseigenschaften in bezüglich der x-Richtung verschiedene Bahnen im Kanal zu überführen. Die Teilchen mit einer hohen Polarisierbarkeit 30a sollen sich von den Teilchen mit einer geringen Polarisierbarkeit 30b in y-Richtung auf verschiedenen Bahnen weiter bewegen.

Die Sortierelektrode 41a ist für eine lineare Kraftwirkung eingerichtet. Hierzu ist die Krümmung der Mikroelektrode entsprechend dem Strömungsprofil ausgebildet. Bei geringen Strömungsgeschwindigkeiten ist ein starker Anstellwinkel zwischen

der Mikroelektrode und der y-Richtung und bei größeren Strömungsgeschwindigkeiten ein geringerer Anstellwinkel ausgebildet. Die Mikroelektrode 41a besitzt somit eine S-Form mit einem Wendepunkt in Kanalmitte. Nach Passage der Sortierelektrode 41a besteht ein linearer Zusammenhang zwischen der x-Koordinate des Teilchens und seiner Polarisierbarkeit. Ist eine nichtlineare Sortierwirkung beabsichtigt, so kann die Mikroelektrode wie die Sortierelektrode 11b gekrümmt sein. Die Krümmung ist schwächer als im Falle der Sortierelektrode 11a, so daß der Einfluß der Antriebskraft F_s durch die Strömungsgeschwindigkeit nicht kompensiert wird. Je nach den eingestellten Verhältnissen ergibt sich ein nichtlinearer Zusammenhang zwischen der x-Position der Teilchen und ihrer Polarisierbarkeit nach Passage der Sortierelektrode 11b. Diese Gestaltung kann insbesondere zur Trennung von zwei Teilchenarten mit verschiedenen Polarisierbarkeiten verwendet werden.

Experimentelle Ergebnisse haben gezeigt, daß sich mit einer Sortieranordnung gemäß Fig. 4a Erythrozyten sauber von sogenannten Jurkart-Zellen trennen ließen, ob beide Zellen die gleiche Größe aufweisen.

Falls das Strömungsprofil im Kanal nicht die in Fig. 4a dargestellte ausgeprägt parabolische Gestalt, sondern eine Plateauform besitzt, so werden Sortierelektroden 41c, 41d gemäß Fig. 4b vorgesehen. Die Strömungsgeschwindigkeit steigt vom Kanalrand her zunächst an und bleibt dann in einem mittleren Bereich des Kanals im wesentlichen konstant. Zur Erzielung einer linearen Sortierwirkung besitzt die Sortierelektrode 41a im mittleren Bereich eine gerade Bandform und an den Enden Krümmungen zur Berücksichtigung der sich ändernden Antriebskraft F_s . Für eine nichtlineare Sortierwirkung ist die Sortierelektrode 41d gekrümmt. Vom Ansatz der Sortierelektrode 41d am Steueranschluß 14 hin zu deren Ende ergibt sich eine zunehmende Wirkung der Feldbarriere.

Die Gestalt der Sortierelektroden kann auch an kompliziertere Strömungsprofile angepaßt werden, wie dies in Fig. 4c gezeigt ist. Im Mikrosystem 20 münden ein erster Kanal 211 mit einer hohen Strömungsgeschwindigkeit und ein zweiter Kanal 212 mit einer geringeren Strömungsgeschwindigkeit in einen gemeinsamen Kanal 21. Aufgrund der Laminarität der Strömung bleibt das Strömungsprofil auch im gemeinsamen Strömungsverlauf zunächst erhalten. Entsprechend sind die Sortierelektroden 41e bzw. 41f zur Erzielung einer bestimmten linearen oder nichtlinearen Sortierwirkung gekrümmt ausgebildet. Je geringer die Strömungsgeschwindigkeit, desto größer ist der Anstellwinkel zwischen der Richtung der Mikroelektrode (Ausrichtung der Bezugsfläche) und der Kanallängsrichtung (y-Richtung).

In den Fig. 4b und 4c ist aus Übersichtlichkeitsgründen die Fokussierelektrode 17 gemäß Fig. 4a nicht dargestellt.

Die oben erläuterte Sortierung erfolgt unter der Annahme eines über die gesamte Mikroelektrodenlänge konstanten Potentials. In der Realität treten jedoch geringfügige elektrische Verluste entlang der Mikroelektrode auf, so daß die Feldbarriere vom Ansatz der Mikroelektrode (bei der Steuerleitung) hin zu ihrem Ende immer kleiner wird. Diese Erscheinung kann bei der Krümmung der Sortierelektroden berücksichtigt werden, indem auf der Steuerleitungsseite des Kanals eine größere Elektrodenkrümmung vorgesehen ist als am Ende der Sortierelektroden. Die genannte Erscheinung kann jedoch auch bewußt für zusätzliche, nicht-lineare Trennwirkungen ausgenutzt werden. Der Potentialabfall hin zum Ende der Mikroelektroden kann bei abgewandelten Ausführungsformen speziell durch Maßnahmen zur Ausbildung von Feldgradienten verstärkt werden. Dies bedeutet, daß die Höhe der durch die Mikroelektrode gebildeten Feldbarriere im Verlauf des gekrümmten Elektrodenbandes zu- oder ab-

nimmt. Derartige Gradientenelektroden können mit einer Gestalt gemäß Fig. 5 aufgebaut sein.

Zur Teilchensortierung in Bezug auf verschiedene Merkmalsgruppen können mehrere Sortierelektroden gemäß Fig. 4 in Kanalrichtung aufeinanderfolgend angeordnet werden. Jede Sortierelektrode ist mit einem charakteristischen Potential oder Potentialverlauf bei einer vorbestimmten Frequenz beaufschlagt. So können beispielsweise relativ niedrige Frequenzen (im Bereich von rd. 10 kHz) zur Sortierung in Bezug auf verschiedene dielektrische Membraneigenschaften und hohe Frequenzen (oberhalb 100 kHz) zur Sortierung in Abhängigkeit von der zytoplasmatischen Leitfähigkeit von biologischen Zellen verwendet werden.

Fig. 5 zeigt Gradientenelektroden 51a, 51b aus Übersichtlichkeitsgründen mit geraden Elektrodenbändern. Zur Einstellung erfindungsgemäß ausgebildeter Feldbarrieren mit gekrümmten Bezugsflächen besitzen die dargestellten Gradientenelektroden zusätzlich noch eine charakteristische, anwendungsabhängige Krümmung entsprechend den oben erläuterten Prinzipien.

Die Gradientenelektrode 51a wird durch ein geschlossenes, um eine dreieckige Fläche geführtes Elektrodenband gebildet. Mit zunehmendem Abstand von der Steuerleitung 14 wird die Feldliniendichte entsprechend der Auffächerung des Dreiecks gering. Entsprechendes gilt für die Gradientenelektrode 51b mit zwei divergierenden Teilbändern 511b und 512b.

Eine weitere wichtige Anwendung fluidischer Mikrosysteme besteht im Sammeln und zumindest zeitweisen Anordnen von Teilchen oder Teilchengruppen im suspensionsflüssigkeitsdurchströmten Kanal. Hierzu werden erfindungsgemäße Elektrodenanordnungen als Fangelektroden gestaltet, wie dies im folgenden unter Bezug auf die Fign. 6 bis 8 erläutert wird.

Fig. 6a zeigt die Grundform einer Fangelektrode. Wiederum ist lediglich eine Mikroelektrode auf der Boden- oder Deckfläche eines Kanals gezeigt, die mit einer zweiten Mikroelektrode auf der gegenüberliegenden Kanalseite zusammenwirkt. Eine Fangelektrode 61a besteht aus einem Elektrodenband mit einem Winkelabschnitt 611a und einem Zuführungsabschnitt 612a. Der Winkelabschnitt 611a bildet einen in Strömungsrichtung (x-Richtung) weisenden Winkel. Der Öffnungswinkel des Winkelabschnittes 611a wird in Abhängigkeit von der Gestalt der einzufangenden Teilchen gewählt und ist vorzugsweise kleiner als 90° , z.B. im Bereich von 20 bis 60° . Die gegenüberliegenden Winkelabschnitte zusammenwirkender Elektroden bilden eine für die einzufangenden Teilchen 30 auch unter Wirkung der Antriebskraft durch die Strömung nicht passierbare Barriere. Diese Barriere bleibt für die Dauer der Ansteuerung der Fangelektroden erhalten. Der Zuführabschnitt 612a ist durch eine Isolationsschicht 16 elektrisch unwirksam. Fig. 6b zeigt eine abgewandelte Form einer Fangelektrode 61b, die entsprechend der oben unter Bezug auf Fig. 3 erläuterten Abdecktechnik hergestellt ist. Der elektrisch wirksame Winkelabschnitt 611b wird durch eine Ausnehmung in der Isolationsschicht 16 gebildet, durch die eine tieferliegende metallische Schicht 15 hin zur Suspensionsflüssigkeit mit den Teilchen offen liegt.

Die Fig. 6c und 6d zeigen entsprechende Fangelektroden 61c und 61d jeweils mit einer Vielzahl von Winkelabschnitten 611c bzw. 611d. Diese Winkelabschnitte sind wiederum zum Auffangen anströmender Partikel 30 eingerichtet. Durch die Aneinanderreihung der Winkelabschnitte 611c bzw. 611d quer zur Kanallängsrichtung (x-Richtung) können die in den verschiedenen Kanalbereichen anströmenden Teilchen selektiv aufgefangen werden. Eine Fangelektrode 61c bzw. 61d wird vorteilhafterweise mit einer der Sortierelektroden gemäß den Fig. 4a bis 4c kombiniert. Die sortierten Teilchen werden separat in den einzel-

nen Fangbereichen der Fangelektroden aufgefangen. Die Fangelektrode 61d entspricht im wesentlichen der Fangelektrode 61c, wobei die genannte Abdecktechnik implementiert wurde.

Die Fangelektroden 61c bzw. 61d sind besonders gut geeignet eine Aufreihung von Teilchen in der Suspensionsströmung nach Art einer Startlinie zu bilden, von der die Teilchen bei Abschalten der Steuerpotentiale der Fangelektroden simultan fortströmen.

Fig. 6e zeigt eine weitere Ausführungsform einer Fangelektrode 61e, bei der auch eine Vielzahl von Winkelabschnitten 611e vorgesehen sind, die jedoch für die Sammlung bzw. das Auffangen verschieden großer Teilchen oder verschieden großer Ansammlungen aus diesen eingerichtet sind.

Die Ansammlung einer Teilchengruppe 300 mit einer Fangelektrode 71a ist in Fig. 7a illustriert. Diese Ausführungsform einer Fangelektrode unterscheidet sich von der Fangelektrode gemäß Fig. 6a lediglich durch die Ausmaße. Diese Gestaltung eignet sich besonders gut zur Bildung von Teilchenaggregaten. Wiederum wird eine Kombination mit einer Sortieranordnung gemäß den Fig. 4a bis 4c bevorzugt realisiert.

Die Elektrodenanordnung gemäß Fig. 7b ist zum separaten Auffangen von Teilchen oder Teilchengruppen aus der Suspensionsströmung im Kanal eingerichtet, die sich in Bezug auf ihre Strömungsbahn in x-Richtung unterscheiden. Die Mikroelektrodenanordnung 71b umfaßt mehrere Teil-Fangelektroden jeweils mit einem Winkelabschnitt 711b, die separat ansteuerbar sind. Bei Kombination einer derartigen Fangelektrodenanordnung mit einer Sortieranordnung gemäß den Fig. 4a bis 4c kann mit besonderem Vorteil die folgende Verfahrensweise realisiert werden.

Zunächst wird ein Teilchengemisch, das durch den Kanal im Mikrosystem strömt, in Abhängigkeit von den passiven elektrischen Eigenschaften der Teilchen sortiert und somit auf verschiedene, in x-Richtung voneinander beabstandete Bahnen gelenkt. Dann erfolgt die teilchenartspezifische Sammlung der in den einzelnen Bahnen anströmenden Teilchen mit einer Fangelektrode gemäß Fig. 7b. Durch eine zeitlich aufeinanderfolgende Freigabe der Teil-Fangelektroden (jeweils durch Abschalten der Steuerpotentiale) können die vorher sortierten Teilchen gruppenweise im Mikrosystem weitergeströmt werden. Im weiteren Kanalverlauf kann beispielsweise eine Aufspaltung in mehrere Teilkanäle erfolgen, in die die Gruppen der Teilchenarten spezifisch gelenkt werden.

Fig. 7c zeigt eine weitere Fangelektrode 71c zur Erzeugung einer vorbestimmten Partikelformation.

Die Winkelabschnitte der in den Fign. 6 und 7 gezeigten Fangelektroden können sich anwendungsabhängig über die gesamte Kanalbreite oder nur über Teile des Kanals erstrecken. Innerhalb einer Elektrodenanordnung können Fangelektroden für einzelne Teilchen und/oder für Teilchengruppen vorgesehen sein.

Weitere Ausführungsformen kombinierter Sortier- und Fangelektroden sind in der Draufsicht auf die Bodenfläche 21a eines durch die Spacer 23 begrenzten Kanals gemäß Fig. 8 illustriert. Der Kanal wird in y-Richtung von der Suspensionsflüssigkeit mit suspendierten Teilchen durchströmt. Gemäß Fig. 8a wirkt eine flächige Mikroelektrode 81a auf der Bodenfläche 21a mit einer geraden, bandförmigen Mikroelektrode 82a (gestrichelt eingezeichnet) auf der entgegengesetzten Deckfläche des Kanals zusammen. Die flächige Mikroelektrode 81a ist durch die oben erläuterte Abdecktechnik hergestellt. Eine metallische Schicht trägt eine Isolationsschicht 86 mit einer Ausnehmung entsprechend der Gestalt der Mikroelektrode 81a (schwarz ge-

zeichnet). Die Feldlinien zwischen den Mikroelektroden 81a und 82a verlaufen quer zur Strömungsrichtung in inhomogener Weise, so daß sich eine asymmetrische Feldbarriere bzw. wiederum eine erfindungsgemäß gekrümmte Bezugsfläche ergibt. In Kanalmitte ist die Feldliniendichte am größten, so daß auch die elektrisch erzeugten Kräfte im Bereich der höchsten Strömungsgeschwindigkeit liegen. Dadurch wird in x-Richtung quer über die Kanalbreite ein im wesentlichen konstantes Gleichgewicht zwischen der Antriebskraft durch die Strömung und der elektrischen Polarisationskraft ausgebildet. Gemäß Fig. 8b wird wiederum eine Feldbarriere mit gekrümmter Bezugsfläche gebildet. Die Mikroelektroden 81b, 82b sind beide linear oder bandförmig ausgeführt und nicht gegenüberliegend, sondern versetzt zueinander angeordnet.

Eine Elektrodenanordnung zur Bildung von Teilchenaggregaten ist in Fig. 8c gezeigt. Die Mikroelektroden 81c, 82c bilden eine Reihe nebeneinander angeordneter, trichterförmiger Partikelfänger. Jeder Partikelfänger 11 wird durch eine Feldbarriere gebildet, die sich in Strömungsrichtung zunächst trichterförmig verengt und dann in einen geraden Kanalabschnitt 812 mündet. Der Kanalabschnitt ist so bemessen, daß zwei Teilchen in Strömungsrichtung hintereinander angeordnet werden können. Durch Ausbildung von Adhäsionskräften bilden die Partikel ein Aggregat (sogenannte Pärchenbeladung in Strömungsrichtung). Die Ausführungsform gemäß Fig. 8d ist dahingehend abgewandelt, daß eine Pärchenbeladung quer zur Strömungsrichtung erfolgt. Dabei sind die einzelnen Fängerelemente 81ld mit eingangsseitigen Elektrodenspitzen 813d ausgebildet, mit denen eine zusätzliche Barrierewirkung oder Filterwirkung erzielt wird und bereits vorhandene Aggregate oder größere Teilchen 30d von einer Anordnung in der Fangelektrode 81d ausgeschlossen werden.

Eine weitere Ausführungsform einer erfindungsgemäßen Elektrodenanordnung gemäß der obengenannten zweiten Variante ist in Fig. 9 dargestellt. Im Mikrosystem 20 ist zwischen den Spacern 23 ein Kanal 21 gebildet, der durch eine Trennwand 231 in Teilkanäle 211 und 212 unterteilt ist. Die Trennwand 231 besitzt eine Öffnung 232, in deren Bereich an den Seitenflächen des Kanals 21 die Mikroelektroden 91 und 92 angebracht sind.

Die Mikroelektroden 91 und 92 sind sogenannte dreidimensionale oder hohe Elektroden, die an den Seitenflächen aus den Ebenen der Boden- und Deckflächen des Kanals 21 herausragen. Die Herstellung der Mikroelektroden 91 und 92 erfolgt mit an sich bekannten Techniken der Halbleiterprozessierung (z.B. mit dem LIGA-Verfahren). Die Mikroelektrode 91 ist flächig ausgeführt. Die Feldlinien reichen zur gegenüberliegenden, bandförmig ausgeführten Mikroelektrode 92 und bilden damit einen gekrümmten Fangbereich mit der in Fig. 1c illustrierten Bezugsfläche.

Werden die Mikroelektroden 91, 92 mit elektrischen Hochfrequenzpotentialen angesteuert, so werden die Partikel 30 mit negativer Dielektrophorese durch die Öffnung 232 in den benachbarten Teilkanal gedrückt. Diese Teilchenablenkung kann wiederum selektiv in Abhängigkeit von den passiven elektrischen Eigenschaften der suspendierten Teilchen erfolgen. Teilchen mit geringer Polarisierbarkeit bleiben im Ausgangskanal, während Teilchen mit hoher Polarisierbarkeit in den Nachbarkanal abgelenkt werden.

Bei der Gestaltung gemäß Fig. 9 ist es nicht zwingend erforderlich, daß die Mikroelektrode 91 beschaltet ist. Sie kann erdfrei geschaltet sein (floating) oder auch ganz weggelassen werden. Im letzteren Fall wirkt die Mikroelektrode 92 als Antenne. Die Mikroelektroden 91, 92 erstrecken sich vorzugsweise über die gesamte Höhe der Seitenflächen des Kanals.

Ein Ausführungsbeispiel einer Elektrodenanordnung entsprechend der obengenannten dritten Variante ist in Fig. 10 (entsprechend Fig. 1d) illustriert. In einem Mikrosystem verlaufen wiederum zwei Teilkanäle 211, 212 parallel zueinander und durch eine Trennwand 231 mit einer Öffnung 232 voneinander getrennt. Die erfindungsgemäße Elektrodenanordnung besteht aus den Mikroelektroden auf den Boden- und Deckflächen in Form von Fokussierungselektroden 101, 102 und der Hilfselektrode 103. Die Hilfselektrode ist an der Trennwand 231 an die Öffnung 232 angrenzend an der stromabwärts gelegenen Seite der Öffnung 232 angeordnet. Die Hilfselektrode 103 verfügt nicht über eine Steuerleitung. Sie dient lediglich der Formung der Bezugsfläche der durch die Elektrodenanordnung gebildeten Feldbarrieren. Die Mikroelektroden wirken wie folgt zusammen.

Die Fokussierelektroden 101 und 102 dienen jeweils der Fokussierung der in den Teilkanälen 211 bzw. 212 anströmenden Teilchen 30a, 30b auf eine Mittellinie entsprechend der Position der Öffnung 232 in der Trennwand 231. Analog zum unter Bezug auf Fig. 9 erläuterten Ablenkprinzip werden die Teilchen durch die Feldbarriere zwischen der Fokussierelektrode 101 und der Hilfselektrode 103 bzw. zwischen der Fokussierelektrode 102 und der Hilfselektrode 103 durch die Öffnung 232 in den benachbarten Teilkanal abgelenkt oder im gegebenen Teilkanal belassen. Gemäß einer bevorzugten Verfahrensweise werden die Fokussierelektroden 101, 102 mit verschiedenen Frequenzen betrieben, um teilchenselektiv zu wirken. Demtentsprechend ist wiederum eine selektive Teilchensortierung in die Teilkanäle oder eine Ablenkung vorbestimmter Teilchen in einen benachbarten Teilkanal zur Durchführung einer bestimmten Wirkstoffbehandlung mit der dort gegebenen Suspensionsflüssigkeit erzielbar.

Eine weitere dreidimensionale Elektrodenanordnung ist in Fig. 11 dargestellt. Ein Kanal 21 wird in y-Richtung mit einer Sus-

pensionsflüssigkeit durchströmt. Auf der Bodenfläche 21a ist eine Gruppe von Mikroelektroden 111 angeordnet, die in den Kanal 21 hineinragen und voneinander beabstandet in Strömungsrichtung (y-Richtung) ausgerichtet sind. Jede Mikroelektrode 111 besitzt die Form eines Quaders. Die Mikroelektroden 111 bestehen aus Metall oder besitzen eine metallische Oberflächenbeschichtung, ohne selbst mit einer Steuerleitung versehen zu sein.

Auf der gegenüberliegenden Kanalwand (Deckfläche, nicht dargestellt) ist eine flächige Elektrodenanordnung 112 (Ablenkelektrode) vorgesehen, die mit den Mikroelektroden 111 wie folgt zusammenwirkt. Die in y-Richtung strömenden Teilchen 30a werden den Feldbarrieren ausgesetzt, die durch die feldformenden Mikroelektroden 111 asymmetrisch und durch gekrümmte Bezugsflächen gekennzeichnet sind. Wiederum erfolgt eine Ablenkung der Teilchen in Abhängigkeit von den passiven elektrischen Eigenschaften. Schwach polarisierbare Teilchen 31a strömen weiter in y-Richtung, während stärker polarisierbare Teilchen 30b in die Abstände zwischen den feldformenden Elektroden 111 abgelenkt werden. Die abgelenkten Teilchen 30b werden dementsprechend aufgefangen oder aufgesammelt und nicht mehr mit der Strömung in y-Richtung weiter transportiert.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform ist die Elektrodenanordnung gemäß Fig. 11 an einer Kreuzung von zwei Kanälen vorgesehen. Der Kanal 21 in y-Richtung wird von einem (nicht dargestellten) Kanal gekreuzt, durch den eine Suspensionsflüssigkeit in x-Richtung (Pfeile A) strömt. Diese laterale Zusatzströmung transportiert die abgelenkten Teilchen 30b kontinuierlich aus den Zwischenräumen zwischen den feldformenden Elektroden 111 in den Querkanal.

Die Geometrie der feldformenden Mikroelektroden 111 kann an die Strömungsverhältnisse und den Feldverlauf in den Elektro-

denzwischenräumen und die Gestalt der gegenüberliegenden Elektrodenanordnung 112 angepaßt sein.

Die Ausführungsform gemäß Fig. 11 kann durch Bereitstellung einer volumenförmigen feldformenden Elektrode 121 anstelle der feldformenden Elektroden 111 gemäß Fig. 12 modifiziert werden. Die volumenförmige Mikroelektrode wird auch als Sammelelektrode 121 bezeichnet. Die Sammelelektrode 121 befindet sich beispielsweise auf der Bodenfläche eines Kanals (nicht dargestellt) und besteht aus einem quaderförmigen Block aus metallischem oder metallisch beschichtetem Material mit einer Vielzahl von spalten- und reihenweise angeordneten Bohrungen oder Reservoirien 121a. Die Sammelelektrode ist auf der Vorderseite geschnitten dargestellt, so daß die Reservoirien 121a erkennbar sind. Die Sammelelektrode 121a wirkt wie folgt mit der flächigen Elektrodenanordnung 122 (Ablenkelektrode) auf der gegenüberliegenden Kanalwand zusammen. Zwischen den Mikroelektroden 122, 121 wird eine asymmetrische Feldbarriere erzeugt, die dazu eingerichtet ist, selektiv Teilchen in die Reservoirien 121a abzulenken. Die Teilchen 30 strömen y-Richtung durch den Kanal. Teilchen, die durch die Feldwirkung nach unten in die Sammelelektrode 121 abgelenkt werden, gelangen in die Reservoirien 121a und werden dort fixiert. Nachdem sämtliche Reservoirien 121a gefüllt sind, kann die Ansteuerung der Elektrodenanordnung derart erfolgen, daß die Teilchen simultan aus den Reservoirien 121a in die Strömung überführt und in dieser als Teilchen- oder Aggregatformation weiter transportiert werden. Hierzu kann gegebenenfalls unterhalb der Sammelelektrode 121 eine weitere flächige Elektrodenanordnung (nicht dargestellt) vorgesehen sein, die im wesentlichen wie die flächige Elektrodenanordnung 122 ausgebildet ist.

Gemäß einem besonderen Gesichtspunkt der Erfindung können die Mikroelektroden bei den einzelnen Gestaltungsformen an sich segmentiert sein. In diesem Fall besteht jede Mikroelektrode

aus einer Reihe von Elektrodensegmenten, die entsprechend der gewünschten Elektrodenfunktion angeordnet sind. Eine besonders vielseitig einsetzbare Mikroelektrode 131 ist in Fig. 13 als Array einer Vielzahl von matrixartig angeordneten, pixelförmigen Elektrodensegmenten dargestellt. Die Elektrodensegmente sind über der gesamten Breite der Bodenfläche 21a zwischen den Spacern 23 angeordnet und einzeln ansteuerbar. Dies ermöglicht die Ausbildung der gewünschten gekrümmten Feldbarrieren, insbesondere entsprechend der obengenannten ersten Variante, in Abhängigkeit von der konkreten Anwendung, insbesondere in Abhängigkeit von den jeweils zu manipulierenden Teilchen, den Strömungsverhältnissen und der Aufgabe des Mikrosystems. In Fig. 13 sind die momentan angesteuerten Pixel schwarz und die nicht-angesteuerten Pixel weiß gezeichnet. In diesem Fall übernimmt die segmentierte Mikroelektrode 131 die Funktion eines Partikeltrichters gemäß Fig. 2, mit dem die Teilchen 30 in die Kanalmitte fokussiert werden.

Die pixelförmigen Elektrodensegmente ermöglichen eine verlustminimierende Fokussierung, Sortierung oder Sammlung von Teilchen. Jedes Elektrodensegment kann mit einem eigenen Potentialwert (Spannung) bzw. einer eigenen Frequenz angesteuert werden. Damit läßt sich ein beliebig vorzugebendes dielektrisches Kraftfeld entlang des Kanales ausbilden. So z.B. läßt sich der Einfluß des Strömungsprofiles dadurch kompensieren, daß die quer zur Kanallängsrichtung angeordneten Pixel mit einer Spannung entsprechend der Quadratwurzel des Profils der Strömungsgeschwindigkeit angesteuert werden.

Die Größe der Elektrodensegmente und Abstände zwischen den Elektrodensegmenten sind vorzugsweise kleiner als charakteristische Dimensionen der zu manipulierenden Teilchen, können aber auch größer sein.

Sämtliche Teilchenmanipulierungen erfolgen berührungsfrei, so daß sich erfindungsgemäße Mikrosysteme besonders für die Manipulierung biologischer Zellen oder Zellbestandteile eignen.

Die Figuren 14 bis 16 zeigen eine schematische Perspektivansicht eines erfindungsgemäßen Aufbaus einer Zentrifuge mit einem Mikrosystem, eine schematische Draufsicht auf ein erfindungsgemäßes Mikrosystem, das zur Teilchentrennung eingerichtet ist, und eine schematische Draufsicht auf ein programmierbares Beladungsmikrosystem gemäß einer weiteren Ausführungsform der Erfindung.

Die hier beschriebenen Ausführungsformen der Erfindung beziehen sich auf die Kombination eines Mikrosystems, das mit einer Mikroelektrodeneinrichtung zur Ausübung negativer oder positiver Dielektrophorese ausgestattet ist (dielektrophoretisches Mikrosystem), mit einer Schwingrotorzentrifugeneinrichtung. Sowohl das dielektrophoretische Mikrosystem (abgesehen von der mindestens einseitigen Verschließbarkeit von Kanalstrukturen) als auch die Schwingrotorzentrifugeneinrichtung sind jeweils an sich bekannt, so daß auf deren technische Einzelheiten hier nicht weiter eingegangen wird. Es wird betont, daß der Begriff der Schwingrotorzentrifugeneinrichtung hier auch im weitesten Sinne dahingehend zu verstehen ist, daß jede Zentrifugeneinrichtung mit mindestens einem drehzahlabhängig aufrichtbaren Rotor eingeschlossen ist, der selbst das Mikrosystem und die zugehörige Steuerung bildet, in den das Mikrosystem und die zugehörige Steuerung integriert oder auf den das Mikrosystem und die zugehörige Steuerung aufgesetzt sind.

Die erfindungsgemäß manipulierten Partikel können synthetische Teilchen oder biologische Objekte umfassen. Die synthetischen Teilchen sind beispielsweise membranumhüllte Gebilde, wie Liposomen oder Vesikeln, oder sogenannte Beads oder auch

Makromoleküle. Die biologischen Objekte umfassen beispielsweise biologische Zellen oder Bestandteile von diesen (z.B. Zellorganellen), Bakterien oder Viren. Die Partikel können auch Aggregate oder Zusammenballungen derartiger Teilchen und/oder Objekte sein. Die Erfindung wird vorzugsweise mit zellphysiologisch oder medizinisch relevanten Fluiden mit Leitfähigkeiten unterhalb 5 Siemens/m implementiert.

Fig. 14 ist eine schematische Übersichtsdarstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Illustration der Anbringung eines dielektrophoretischen Systems an einer Zentrifugeneinrichtung.

An einem üblichen oder anwendungsabhängig modifizierten Rotor einer Zentrifuge mit der Drehachse 11 befinden sich vier Aufnahmen 12, in die jeweils paßgerecht und für die applizierten Drehzahlen entsprechend ein Mikrosystem 15 und eine Steuerelektronik 13 zur Ansteuerung des Mikrosystems mit hochfrequenten Wechsignalen verschiedener Phasenlage und Amplitude eingesetzt sind. Die Steuerelektronik ist über Kabel 14, Stecker oder anderweitig mit dem Mikrosystem 15 verbunden. Die Energieversorgung der Steuereinrichtung erfolgt vorzugsweise über eine elektrische Verbindung, (umlaufender Kontakt) mit dem festen Laborsystem. Das Mikrosystem hat ein Eingangsdepot 16, das anwendungsabhängig verschieden groß ausgelegt sein kann und vor der Zentrifugation mit einer Teilchen- oder Zellsuspension gefüllt wird. Vom Eingangsdepot 16 aus verläuft eine Kanalstruktur, deren Einzelheiten weiter unten erläutert werden, bis zu Auffangzonen 17a, 17b, die ein zumindest während des Zentrifugierens geschlossenes Ende des Mikrosystems 15 bilden. Dies bedeutet, daß das Ende des Mikrosystems entweder dauerhaft abgeschlossen oder bei Stillstand der Vorrichtung durch entsprechende Verbindungselemente geöffnet und an vorbestimmte Zusatzsysteme zur Probenübertragung angeschlossen werden kann. Das Mikrosystem 15 ist so auf der Aufnahme 12 angeordnet, daß bei

Betrieb der Zentrifugeneinrichtung (Drehung des Rotors um die Drehachse 11 mit der Drehfrequenz ω) die auf das Mikrosystem 15 und in diesem befindliche Partikel wirkenden Zentrifugalkräfte in der Bezugsrichtung vom Eingangsdepot 18 hin zu den Auffangzonen 17a, 17b gerichtet sind. Die Aufnahmen 12 sind verschwenkbar am Rotor (nicht dargestellt) angebracht. Beim Stillstand der Zentrifuge sind die Aufnahme 12 im wesentlichen vertikal oder mit einem geringen Winkel gegenüber der Drehachse ausgerichtet. Beim Zentrifugenebetrieb richten sich die Aufnahmen 12 drehzahlabhängig in einen größeren Winkel bis hin in die horizontale Ausrichtung senkrecht zur Drehachse 11 auf. Unter der Wirkung der Gravitationskraft (bei Stillstand der Zentrifuge) bzw. der Zentrifugalkräfte durchlaufen die Teilchen das elektronisch gesteuerte Mikrokanalsystem und sammeln sich in den Auffangzonen (z.B. am geschlossenen Ende des von der Rotorachse wegweisenden Teils des Mikrosystems).

Bei diesem Durchlauf werden die Partikel nach vorbestimmten Programmen (s. unten) behandelt. Da die Teilchen in Abhängigkeit von ihrer Dichte verschiedene Bewegungen ausführen und Endpositionen einnehmen, wird in der vorliegenden Erfindung der Vorteil der Zentrifugaltrennung und -bewegung mit den Möglichkeiten der programmierbaren Dielektrophorese kombiniert. In der Regel wird negative Dielektrophorese, in Ausnahmefällen auch positive Dielektrophorese der Teilchen genutzt. Ein weiterer Vorteil der Erfindung ist die Steuerung der Teilchenbewegung über die Rotationsgeschwindigkeit (ω) des Rotors 11. Da hierbei ebenfalls programmierbare Variationen durchlaufen werden können, ist ein zweiter Komplex von festlegbaren Parametern bei der Partikelmanipulation gegeben.

Die Zentrifugeneinrichtung ist mit einer (nicht dargestellten) Drehzahlsteuerung versehen, die für eine reproduzierbare und genaue Drehzahleinstellung insbesondere in niedrigen Drehzahlbereichen eingerichtet ist. Die Drehzahl wird anwendungsabhän-

gig je nach der gewünschten Geschwindigkeit der zu manipulierenden Teilchen und in Abhängigkeit vom konkreten Zentrifugenaufbau gewählt. Die interessierenden Partikelgeschwindigkeiten liegen für biologische Partikel (z.B. Zellen) unterhalb von rd. 500 $\mu\text{m/s}$ (vorzugsweise im Bereich von 50 bis 100 $\mu\text{m/s}$) und für synthetische Partikel (z.B. Latex-Beads) bei höheren Geschwindigkeiten (z.B. einige mm/s). Die Drehzahl der Zentrifugeneinrichtung wird entsprechend den Zusammenhängen von Drehzahl und Zentrifugalkraft in Abhängigkeit von der Größe bzw. Massendichte der Partikel gewählt. Die folgenden Angaben beziehen sich auf einen Abstand des Mikrosystems von der Rotorachse im Bereich von 1 bis 10 cm. Für Partikeldurchmesser im Bereich von 50 bis 600 nm (z.B. Viren) können die Drehzahlen beispielsweise im Bereich von 1 bis 1000 U/min liegen. Bei Partikeln mit einem Durchmesser von rd. 5 μm werden Drehzahlen bis zu 100 U/min bevorzugt, wobei jedoch auch höhere Drehzahlen einstellbar sind. Bei besonders kleinen Partikeln, z.B. Makromoleküle sind auch noch höhere Drehzahlen realisierbar. Für biologische Zellen ergeben sich bei einem Abstand des Mikrosystems von rd. 5 bis 10 cm von der Drehachse 11 Drehzahlen im Bereich von wenigen Umdrehungen pro Minute bis zu einigen 100 (z. B. 600) Umdrehungen pro Minute, vorzugsweise unterhalb 100 U/min. Die erzielbaren Zentrifugalkräfte liegen im Bereich von pN bis nN. Die Zentrifugeneinrichtung ist jedoch auch für größere Drehzahlen ausgelegt, die insbesondere für kleine Partikel oder für Reinigungs- oder Spülzwecke eingestellt werden können. Diese erhöhten Drehzahlen können bis zum Bereich der Drehzahlen herkömmlicher Laborzentrifugen reichen.

Die Drehzahl der Zentrifuge wird auch in Abhängigkeit von den dielektrophoretischen Kräften ausgewählt, die auf die Partikel im Mikrosystem wirken. Die dielektrophoretischen Kräfte sind als Polarisationskräfte von der Teilchenart und -größe abhängig. Die Drehzahl wird vorzugsweise so ausgewählt, daß die Zentrifugalkräfte auf die Partikel kleiner oder gleich den dielek-

trophoretischen Kräften sind. Falls diese nicht bekannt sind, kann die Drehzahl auch in Bezug auf das folgende Kriterium ausgewählt werden. Die Teilchen müssen sich so langsam durch die Kanalstruktur bewegen, daß beim Vorbeitritt an den Mikroelektrodeneinrichtungen genügend Zeit zur dielektrophoretischen Ablenkung bleibt. Die Wirksamkeit oder Unwirksamkeit der dielektrophoretischen Ablenkung in Abhängigkeit von der Drehzahl kann mit geeigneten Sensoren optisch oder elektrisch erfaßt werden.

Fig. 15 zeigt in schematischer Weise ein Mikrosystem zur Auftrennung eines Partikelgemisches, bestehend aus größeren Teilchen 21 (z.B. Zellen) und kleinen Teilchen 22, die in einer Suspension vorliegen. Die Zentrifugalkräfte wirken in Pfeilrichtung 23 (Bezugsrichtung). Die typischen Abmessungen der Kanalstruktur 24 sind die folgenden:

| | |
|---------|--|
| Breite: | einige 10 μm bis zu einigen mm (typischerweise: 200 - 400 μm) |
| Länge: | einige mm bis zu einigen cm (typischerweise: 20 - 50 mm) |
| Höhe: | einige μm bis zu einigen 100 μm (typischerweise: 50 μm) |

Auf der Oberseite 25 und Unterseite 26 des Kanals 24 sind Mikroelektroden 27a, 27b gegenüberliegend angeordnet, die bei Ansteuerung mit einer Wechselspannung (in der Regel einer Frequenz im MHz-Bereich und einer Amplitude von einigen Volt) quer zum Kanal Feldbarrieren erzeugen, die über negative (bedingt auch positive) Dielektrophorese die Teilchen ablenken (im hier gezeigten Fall die großen Teilchen).

Die Kanalstruktur 24 reicht vom Eingangsdepot 28 zu den geschlossenen Kanalenden 29a, 29b, in die sich der in einem mittleren Abschnitt gerade Kanal verzweigt. Ein erstes Paar der Mikroelektroden 27a, 27b ist unmittelbar am kanalseitigen Ende

des Eingangsdepots 28 zur Ausbildung einer Feldbarriere angeordnet, die schräg in den Kanal hineinragt und die Aufgabe besitzt, die großen Teilchen 21 in den in Draufsicht rechten Teil des Kanals 24 zu drängen. Ein zweites Paar der Mikroelektroden 27a, 27b ist unmittelbar vor der Verzweigung zu den Kanalenden 29a, 29b angeordnet und bildet eine Feldbarriere, die schräg über die Kanalbreite bis in die zum Kanalende 29b führende Abzweigung reicht und dazu vorgesehen ist, die großen Teilchen 21 zu diesem Kanalende hin zu führen.

Ein erfindungsgemäßes Manipulationsverfahren, das bei diesem Beispiel auf eine Trennung der Teilchen gerichtet ist, umfaßt die folgenden Schritte.

Vor der Zentrifugation wird das Mikrosystem mit einer geeigneten Flüssigkeit gefüllt. Dabei ist das Mikrosystem bereits in eine Aufnahme 12 der Zentrifuge (s. Fig. 14) eingebaut. Der Einbau kann aber auch nach der Befüllung des Mikrosystems erfolgen. Kurz vor Beginn der Zentrifugation werden die Elektroden 27a, 27b angesteuert und im Eingangsdepot 28 wird z.B. mit einer Pipettiereinrichtung die Suspension der zu trennenden Teilchen zugegeben. Die Zentrifugeneinrichtung ist zunächst noch im Ruhezustand, d.h. das Mikrosystem ist vertikal oder zur Vertikalen leicht geneigt ausgerichtet. Die Gravitationskraft, die auf die Teilchen wirkt, führt zu einem masseabhängig verschieden schnellen Absinken in die Kanalstruktur (Sedimentation). Die weitere Bewegung der Teilchen hin zu den Kanalenden erfolgt je nach der gewünschten Teilchengeschwindigkeit ausschließlich unter der Wirkung der Gravitationskraft oder unter der gemeinsamen Wirkung der Gravitationskraft und der Zentrifugalkräfte. Die Zentrifugation kann somit als Sedimentation unter der Wirkung einer künstlich erhöhten Fallbeschleunigung aufgefaßt werden. Die sich bewegenden Teilchen werden durch das elektrische Feld des ersten Paares der Mikroelektroden größenabhängig getrennt.

Die Darstellung in Fig. 15 zeigt die Verhältnisse während der Sedimentation bzw. Zentrifugation. Durch die exakt einstellbaren Zentrifugalkräfte über die Rotationsgeschwindigkeit bewegen sich die Teilchen in den unteren Teil des Mikrosystems. Entsprechend der üblichen Zentrifugationsprinzipien sedimentieren die Teilchen mit der größten Dichte zuerst. Da die Teilchen 21 durch die elektrische Feldbarriere im Kanal nach rechts verschoben werden, während die Teilchen 22 davon unbeeinflusst bleiben, so ergibt sich in den Kanalenden 29a, 29b eine Trennung beider Teilchenarten. Die Teilchen in jedem der Kanalenden ordnen sich zusätzlich wie bei der üblichen Zentrifugation entsprechend ihrer Dichte an. Das dargestellte Mikrosystem kann als Grundform einer erfindungsgemäßen Vorrichtung betrachtet werden, wobei diese Grundform anwendungsabhängig vergrößert, erweitert oder mit weiteren Mikrostrukturen kombiniert werden kann. Der Vorteil besteht darin, daß keine Lösungsströmung entsteht und dennoch die Partikelbewegung gerichtet und einstellbar ist. Derartige Systeme können auch entgegengesetzte Bewegungen erzeugen, wenn die Teilchen einen Auftrieb besitzen.

Ausgehend von der dargestellten Grundform kann ein erfindungsgemäßes Mikrosystem beliebig erweitert werden, wie es an sich von den dielektrophoretischen Mikrosystemen bekannt ist. Demnach kann die Kanalstruktur insbesondere mehrere, über Verzweigungen miteinander verbundene Einzelkanäle aufweisen. Die Kanäle können gerade oder gekrümmt sein. Gekrümmte Kanalformen (z.B. Bögen, Mäander, Biegungen, Winkel usw.) können insbesondere zur Untersuchung von Bindungsunterschieden von Partikeln mit den Kanalwänden verwendet werden.

Gemäß einer weiteren Modifikation kann das Mikrosystem an der Aufnahme 12 (s. Fig. 14) drehbar angebracht sein. Während eines ersten Zentrifugationsvorganges erfolgt in einer ersten Mikrosystemorientierung z.B. eine Teilchentrennung gemäß Fig. 15.

Anschließend wird die Orientierung des Mikrosystems um 180° verändert, so daß die Gravitations- und/oder Zentrifugalkräfte entgegengesetzt der Pfeilrichtung 23 wirken. Die Kanalenden 29a, 29b übernehmen dann die Funktion von Eingangsdepots, von denen bei Vorhandensein geeigneter Kanalstrukturen (zusätzliche seitliche Abzweigungen) eine weitere Verteilung der getrennten Teilchen in Untergruppen oder eine bestimmte Behandlung (Bela-den mit Stoffen, Elektroporation u. dgl.) erfolgen kann. Es sind auch in Abhängigkeit von der Kanalstruktur andere Orien-tierungsänderungen als die genannte 180° -Umkehr möglich. Es be-steht ferner die Möglichkeit, die Aufnahme 12 so zu gestalten, daß das Mikrosystem während der Zentrifugation gedreht wird.

Eine weitere Ausführungsform der Erfindung, nämlich ein programmierbares Beladungsmikrosystem für Zellen oder Teilchen ist in Fig. 16 gezeigt. Hier ist der Zentrifugationskanal in drei Teile 31a, 31b, 31c unterteilt. In den Zwischenwänden be-finden sich Öffnungen 32, durch die wieder Elektroden 33 auf der Ober- und Unterseite des Kanals hindurchreichen. Die Öff-nungen sind der Teilchengröße angepaßt (typischerweise 5- bis 20-fach größer als der Durchmesser). Zu Beginn werden in jeden der Kanalteile 31a bis 31c verschiedene Lösungen eingefüllt, die der chemischen Veränderung oder Beladung der Partikel dienen. Danach werden in einen Kanalteil (hier z.B. 31c) die Teilchen eingefügt. Durch die Zentrifugation gelangen die Teil-chen (z.B. zuerst die schwarzen, dann die hellen) an die Elek-troden 33 und können so automatisch über die elektrischen Feld-barrieren durch die Öffnungen 32 in die Nachbarlösungen über-führt werden.

Auch hier kommt es zu einer Sortierung in den drei Kanalenden 31d, 31e, 31f und gleichzeitig zu einer Anordnung der Teilchen entsprechend der Masseunterschiede.

Weitere Eigenschaften der Mikrosysteme bestehen darin, daß

sie Öffnungen (Zuflüsse, Durchflüsse, Abflüsse) besitzen können, die sich verschließen lassen, so daß die Teilchen nach der Zentrifugation oder davor leicht entnommen oder eingefügt werden können. Ferner können all die Mikroelektrodenelemente (Halteelektroden für Teilchen, Mikrofeldkäfige etc.) eingebaut werden, die für die dielektrophoretische Beeinflussung von Teilchen an sich bekannt sind und bei herkömmlichen Mikrosystemen, die mit strömenden Flüssigkeiten arbeiten, eingesetzt werden. Aufgrund des Zusammenwirkens der Gravitations- bzw. Zentrifugalkräfte mit den dielektrophoretischen Kräften ist das erfindungsgemäße Verfahren eine elektrisch gesteuerte oder aktive Zentrifugation. Zusätzlich können Kombinationen mit der Einwirkung optischer Kräfte (Laser-Tweezer), magnetischer Kräfte (Einwirkung auf magnetische Partikel) oder mechanischer Kräfte in Form von Ultraschallkräften vorgesehen sein.

Anwendungsgebiete der Erfindung sind insbesondere:

Zelltrennung/-fraktionierung, Zellsortierung, Zellbeladung (molekular, Nanoteilchen, Beads), Zellentladung (molekular), Zellpermeation (sog. Elektroporation), Zellfusion (sog. Elektrofusion), Zellpärchenbildung, und Zellaggregatbildung.

Die Erfindung ist nicht auf bestimmte Lösungs- oder Suspensionsflüssigkeiten beschränkt. Es ist vorteilhaft, wenn die Viskosität der im Mikrosystem enthaltenen Flüssigkeit bekannt ist. Bei bekannter Viskosität läßt sich die Drehzahl zur Einstellung einer bestimmten Partikelgeschwindigkeit auf der Grundlage von Tabellenwerten oder durch einen Programmalgorithmus ermitteln. Alternativ ist es jedoch auch möglich, die tatsächliche Geschwindigkeit der Partikel im Mikrosystem während der Zentrifugation zu erfassen (z.B. mit einem optischen Sensor) und die Drehzahl zur Einstellung einer bestimmten Partikelgeschwindigkeit zu regeln. Es kann vorgesehen sein, daß in verschiedenen Teilbereichen des Kanalstrukturen, z.B. in parallel verlaufenden Kanälen, die nur über eine Öffnung miteinander

verbunden sind, Flüssigkeiten mit verschiedenen Viskositäten enthalten sind. In diesem Fall werden jedoch Viskositäten bevorzugt, bei denen sichergestellt ist, daß die Diffusion der Flüssigkeiten durch die Öffnung über den Zentrifugationszeitraum verhältnismäßig klein oder vernachlässigbar klein ist.

Falls die Massendichte der Partikel kleiner als die Flüssigkeit im Mikrosystem ist, kann die Erfindung entsprechend abgewandelt implementiert werden, indem Partikel gegebenenfalls auf der der Drehachse abgewandten Seite des Mikrosystems eingebracht werden und unter Wirkung des Auftriebs oder unter kombinierter Wirkung des Auftriebs und der Zentrifugalkräfte zum anderen Ende des Mikrosystems wandern.

Das Mikrosystem wird anwendungsabhängig in Bezug auf die Kanalstruktur und die Ausrichtung der Elektrodeneinrichtungen angepaßt. Die Kanalquerdimensionen sind in der Regel wesentlich größer als die Durchmesser der einzelnen Partikel. Dadurch wird vorteilhafterweise ein Verstopfen der Kanäle vermieden. Sind lediglich Partikel mit besonders geringen Dimensionen zu manipulieren (z.B. Bakterien oder Viren oder Zellorganellen), so können die Kanaldimensionen entsprechend verringert werden, z.B. auf Beträge unterhalb 10 μm .

Die Erfindung wird mit einem Mikrosystem implementiert, das mindestens einseitig geschlossen ist. Das geschlossene Ende kann ein geschlossenes Kanalende, eine geschlossene Sammelzone oder auch ein geschlossener Hohlraum im Mikrosystem sein. Bei der erfindungsgemäßen Partikelmanipulation erfolgt im wesentlichen keine Flüssigkeitsbewegung hin zu dem geschlossenen Ende. Dies bedeutet, insbesondere bei Realisierung von Sammelzonen oder Hohlräumen am geschlossenen Ende, daß diese wie das gesamte Mikrosystem zu Beginn der Partikelmanipulation mit der Lösung oder Suspension für die Teilchen gefüllt ist.

Falls es beim Manipulieren der Partikel zu Zusammenballungen oder vorübergehenden Verstopfungen der Kanalstrukturen kommt, so ist erfindungsgemäß vorgesehen, die Drehzahl der Zentrifuge kurzzeitig zu erhöhen, um so die zusammenhaftenden Partikel abzulösen und weiter zu bewegen.

PATENTANSPRÜCHE

1. Elektrodenanordnung in einem Mikrosystem, das zur dielektrophoretischen Manipulierung von Teilchen in einer Suspensionsflüssigkeit in einem Kanal eingerichtet ist, wobei mindestens eine Mikroelektrode auf einer seitlichen Wand des Kanals zur Erzeugung einer Feldbarriere entlang einer Bezugsfläche angeordnet ist, die den Kanal zumindest teilweise durchsetzt,

dadurch gekennzeichnet, daß

die Mikroelektrode eine vorbestimmte Krümmung oder vorbestimmte Winkel in Bezug auf die Strömungsrichtung im Kanal besitzt, so daß die Bezugsfläche eine vorbestimmte Krümmung relativ zur Strömungsrichtung besitzt.

2. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 1, bei der die Elektrodenanordnung mindestens zwei an gegenüberliegenden Kanalwänden angebrachte Mikroelektroden gleicher Gestalt und Ausrichtung umfaßt, die jeweils die Form eines gekrümmten Bandes besitzen.

3. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 2, bei der die Mikroelektroden in Abhängigkeit vom Strömungsprofil so gekrümmt sind, daß in jedem Abschnitt der Feldbarriere der Mikroelektrode die auf ein Teilchen wirkende resultierende Kraft in einen Bereich weist, der stromaufwärts in Bezug auf die Mikroelektrode gelegen ist.

4. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 3, bei der vier Mikroelektroden als Fokussierelektroden zur Bildung eines Partikeltrichters angeordnet sind.

5. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 2, bei der die Mikroelektroden so gekrümmt sind, daß die auf ein Teilchen wirkende

resultierende Kraft von einem Ende der Mikroelektrode hin zum anderen Ende eine Richtungsänderung durchläuft, die von einer Richtung in einen in Bezug auf die Mikroelektrode stromabwärts gelegenen Bereich zu einer Richtung in einen in Bezug auf die Mikroelektrode stromaufwärts gelegenen Bereich führt.

6. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 5, bei der zwei Mikroelektroden als Sortierelektroden vorgesehen sind, deren Feldbarriere mit dem Strömungsprofil der Suspensionsflüssigkeit im Kanal so zusammenwirkt, daß suspendierte Teilchen mit verschiedenen passiven elektrischen Eigenschaften die Sortierelektroden je nach ihren Eigenschaften auf getrennten Bahnen passieren können.

7. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 2, bei der an gegenüberliegenden Kanalwänden mindestens zwei Mikroelektroden gleicher Gestalt und Ausrichtung vorgesehen sind, die jeweils einen stromabwärts geschlossenen Winkelabschnitt aufweisen.

8. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 7, bei der die Mikroelektroden als Fangelektroden zusammenwirken.

9. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 7 oder 8, bei der eine Gruppe von Fangelektroden in Kanalquerrichtung angeordnet sind.

10. Elektrodenanordnung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei der die Mikroelektroden paarweise jeweils auf den Boden- und Deckflächen des Kanals angeordnet sind.

11. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 1, bei der zwei Mikroelektroden an gegenüberliegenden Kanalwänden vorgesehen sind, die verschiedene geometrische Formen besitzen.

12. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 11, bei der der Kanal eine rechteckige Querschnittsgestalt besitzt und die Mikroelektroden an den schmaleren Seitenflächen angebracht sind und eine flächige Mikroelektrode auf einer Seitenfläche und eine bandförmige Mikroelektrode auf der gegenüberliegenden Seitenfläche umfassen.

13. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 12, bei der die flächige Mikroelektrode erdfrei angeordnet ist.

14. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 12 oder 13, bei der der Kanal durch eine Trennwand in zwei Teilkanäle getrennt ist, wobei die Trennwand im Bereich der gegenüberliegend angeordneten Mikroelektroden eine Öffnung aufweist.

15. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 1, bei der drei Mikroelektroden vorgesehen sind, von denen zwei Mikroelektroden als Fokussierelektroden an den Boden- und Deckflächen des Kanals angebracht und eine dritte Mikroelektrode als Hilfselektrode mit Abstand von den Boden- und Deckflächen in der Mitte des Kanals angeordnet ist.

16. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 15, bei der der Kanal durch eine Trennwand in zwei Teilkanäle mit einer Öffnung stromaufwärts in Bezug auf die Hilfselektrode geteilt ist.

17. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 1, bei der an einer Kanalwand eine quaderförmige Sammelelektrode mit einer Vielzahl von Reservoirien angeordnet ist, die mit einer Ablenkelektrode auf der gegenüberliegenden Kanalwand zur Ablenkung von Teilchen in die Reservoirie zusammenwirkt.

18. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 1, bei der an einer Kanalwand eine Vielzahl von quaderförmigen, voneinander beabstandeten Teilelektroden vorgesehen sind, die mit einer auf

der gegenüberliegenden Kanalwand angeordneten Ablenkelektrode zur Ablenkung von Teilchen in die Abstände zwischen den quaderförmigen Teilelektroden eingerichtet ist.

19. Mikrosystem, das mit einer Elektrodenanordnung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche ausgestattet ist.

20. Verwendung einer Elektrodenanordnung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 18 zum Ablenken, Sortieren, Sammeln und/oder Formieren von mikroskopisch kleinen Teilchen.

21. Verfahren zur Manipulation von Partikeln in einem fluidischen Mikrosystem (15, 24, 31), bei dem die Partikel (21, 22) in einer Suspensionsflüssigkeit in einer vorbestimmten Bezugsrichtung bewegt werden,

dadurch gekennzeichnet, daß

das Mikrosystem (15, 24, 31) mindestens an seinem in der Bezugsrichtung liegenden Ende (17a, 17b, 29a, 29b, 31d, 31e, 31f) verschlossen wird,

die Partikel sich mit einer durch vorbestimmte Zentrifugal- und/oder Gravitationskräfte eingestellten Geschwindigkeit in der in Bezug auf das Mikrosystem (15, 24, 31) ruhenden Suspensionsflüssigkeit bewegen, wobei die Zentrifugal- und/oder Gravitationskräfte im wesentlichen parallel zu der Bezugsrichtung verlaufen, und

die Partikel im Mikrosystem (15, 24, 31) Ablenkkraften ausgesetzt werden, deren Richtung von der Bezugsrichtung abweicht.

22. Verfahren gemäß Anspruch 21, bei dem das Mikrosystem (15, 24, 31) an einer Schwingrotorzentrifugeneinrichtung angebracht ist, wobei die Partikelbewegung bei Stillstand der Schwingrotorzentrifugeneinrichtung als Sedimentation unter Wirkung der Gravitationskraft und bei Betrieb der Schwingrotorzentrifugeneinrichtung unter Wirkung der Zentrifugalkräfte erfolgt.

23. Verfahren gemäß Anspruch 22, bei dem die Ablenkkräfte elektrische Polarisationskräfte, optische Kräfte, magnetische Kräfte oder Ultraschallkräfte umfassen.

24. Verfahren gemäß Anspruch 23, bei dem die Drehzahl der Schwingrotorzentrifugeneinrichtung so eingestellt ist, daß die auf die Partikel wirkenden Zentrifugalkräfte kleiner oder gleich als die Ablenkkräfte sind.

25. Verfahren gemäß Anspruch 23, bei dem die Drehzahl der Schwingrotorzentrifugeneinrichtung so eingestellt ist, daß sich die Partikel so langsam bewegen, daß unter Wirkung der Ablenkkräfte eine Ablenkung der Partikel aus der Bezugsrichtung erfolgt.

26. Verfahren gemäß Anspruch 23, bei dem die Drehzahl der Schwingrotorzentrifugeneinrichtung in Abhängigkeit von der mit einem optischen oder elektrischen Sensor erfaßten Geschwindigkeit der Partikel geregelt wird.

27. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem mehrere Partikelbewegungen unter Wirkung der Zentrifugalkräfte in getrennten Zentrifugationsschritten erfolgen, wobei zwischen den Zentrifugationsschritten eine Verstellung des Mikrosystems zur veränderten Ausrichtung in Bezug auf die Zentrifugalkräfte erfolgt.

28. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die Drehzahl der Schwingrotorzentrifugeneinrichtung in Abhängigkeit von der Größe oder Dichte der Partikel gewählt wird.

29. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem sich die Partikel unter Wirkung von Auftriebskräften ent-

gegengesetzt zur Richtung der Zentrifugal- und/oder Gravitationskräfte bewegen.

30. Mikrosystem (15, 24, 31) mit mindestens einem Kanal, der von einem Eingangsdepot (16, 28) zu Kanalenden (17a, 17b, 29a, 29b, 31d, 31e, 31f) verläuft,

dadurch gekennzeichnet, daß

das Mikrosystem (15, 24, 31) zur Anbringung am Rotor einer Zentrifuge derart eingerichtet ist, daß beim Zentrifugenbetrieb die Zentrifugalkräfte, die auf Partikel im Kanal wirken, im wesentlichen parallel zur Kanalausrichtung verlaufen, und die Kanalenden (17a, 17b, 29a, 29b, 31d, 31e, 31f) geschlossen oder während des Zentrifugenbetriebs verschließbar sind.

31. Mikrosystem gemäß Anspruch 30, das eine Mikroelektroden-einrichtung aufweist, die Mikroelektroden zur Erzeugung von Feldbarrieren im Mikrosystem umfaßt.

32. Mikrosystem gemäß Anspruch 31, bei dem die Mikroelektroden an gegenüberliegenden Längsseiten des Kanals angeordnet und zur Beaufschlagung mit einer hochfrequenten Wechselspannung eingerichtet sind.

33. Mikrosystem gemäß Anspruch 32, bei dem die Mikroelektroden bandförmige Elektroden sind, die sich schräg zur Kanalausrichtung erstrecken und zur Erzeugung von Feldbarrieren im Kanal eingerichtet sind.

34. Mikrosystem gemäß einem der Ansprüche 30 bis 33, das am Rotor der Zentrifuge verschwenkbar angebracht ist.

35. Mikrosystem gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche 30 bis 33, bei dem eine elektronische Steuerung des Mikrosystems am Rotor der Zentrifuge angebracht ist.

36. Verwendung eines Verfahrens oder einer Vorrichtung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche zur Trennung, Fraktionierung, Sortierung, Beladung, Entladung, Permeation, Fusion, Pärchenbildung und/oder Aggregatbildung synthetischer Teilchen und/oder biologischer Partikel.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

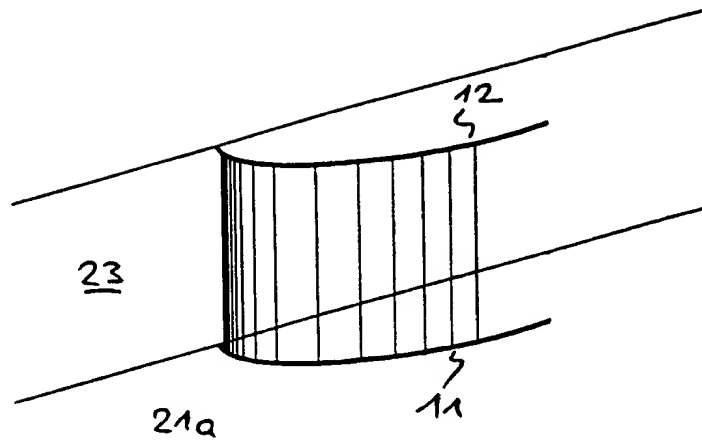


Fig. 1b

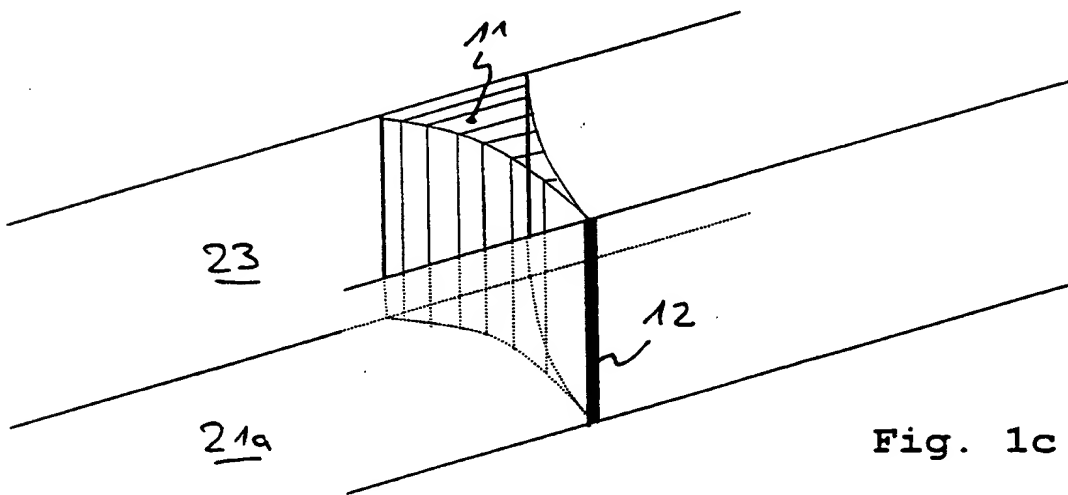


Fig. 1c

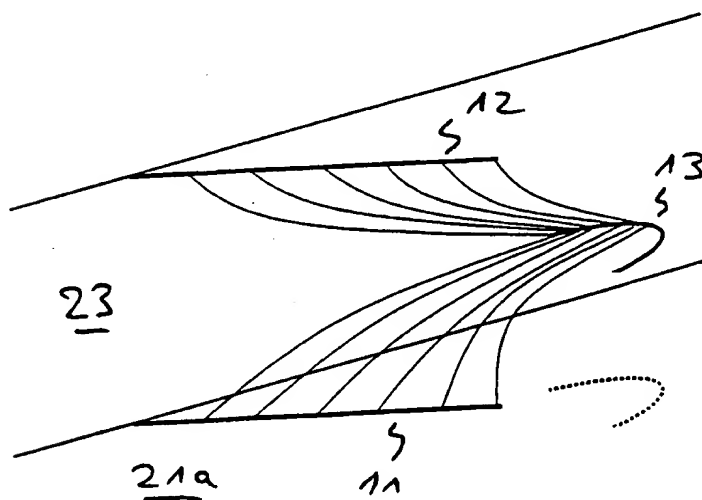


Fig. 1d

THIS PAGE BLANK (USPTO)

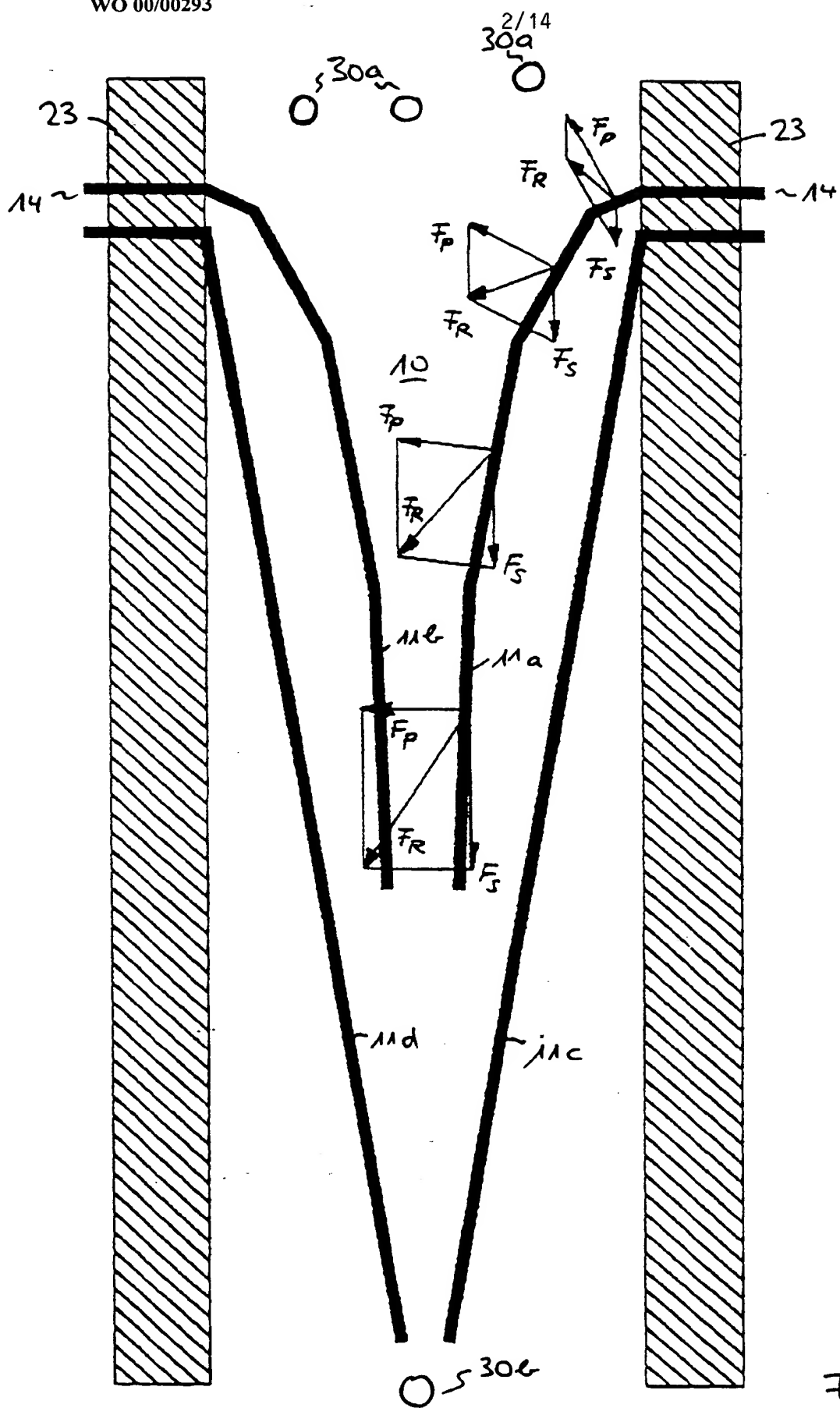


Fig.2

THIS PAGE BLANK (USPTO)

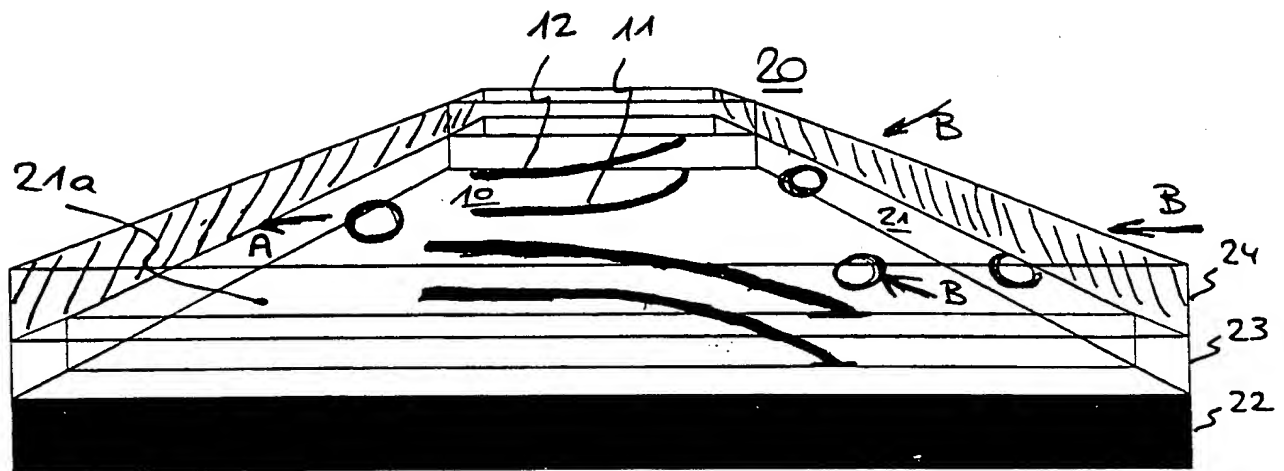


Fig. 1a

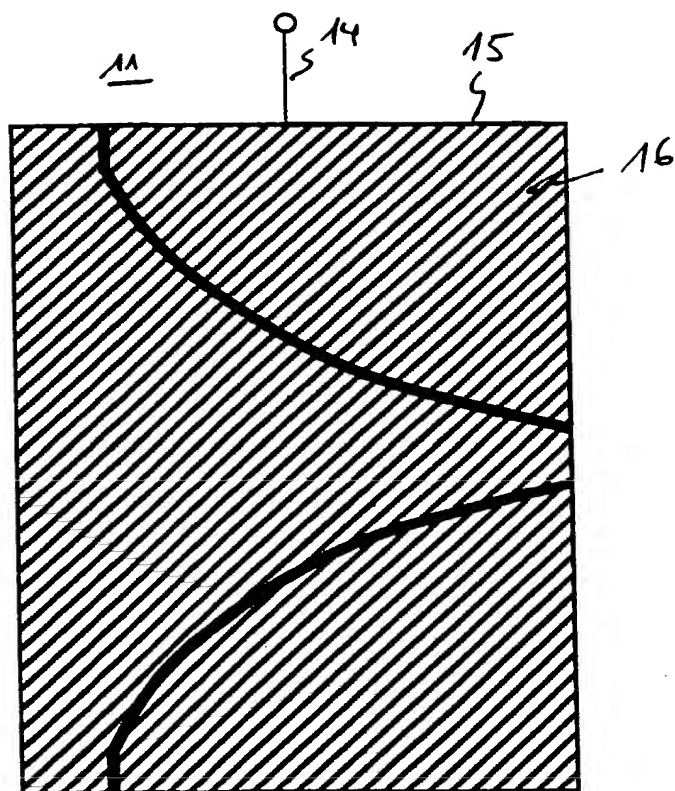
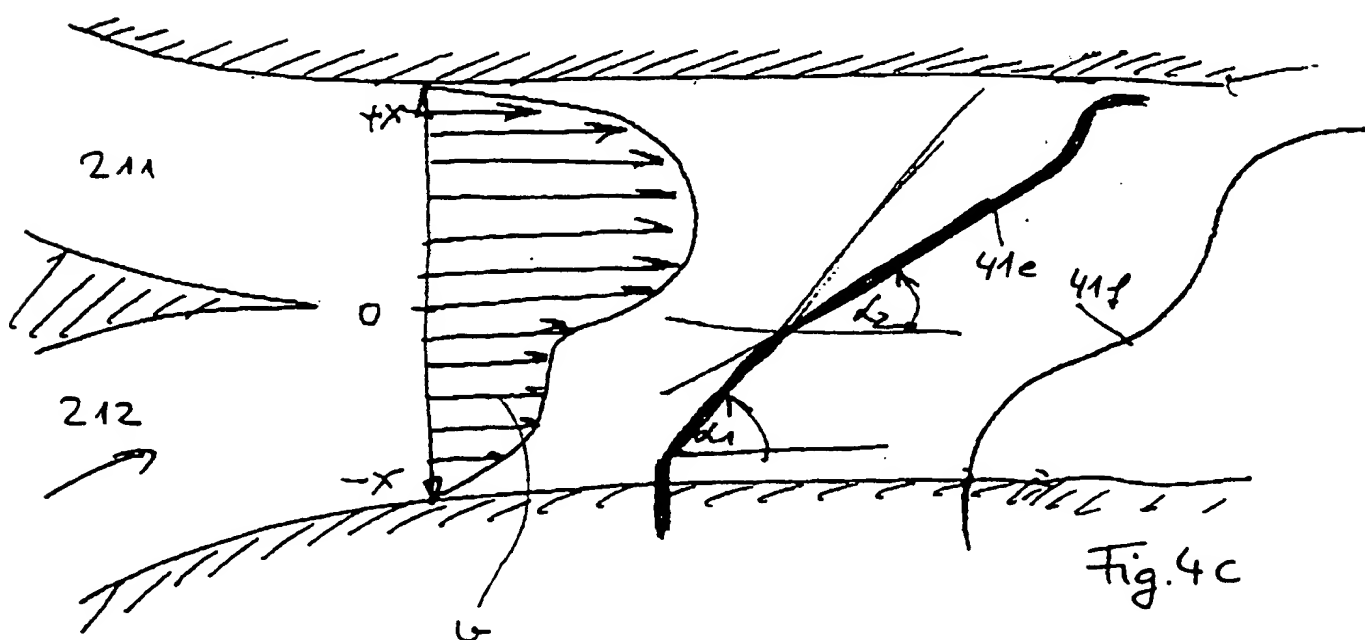
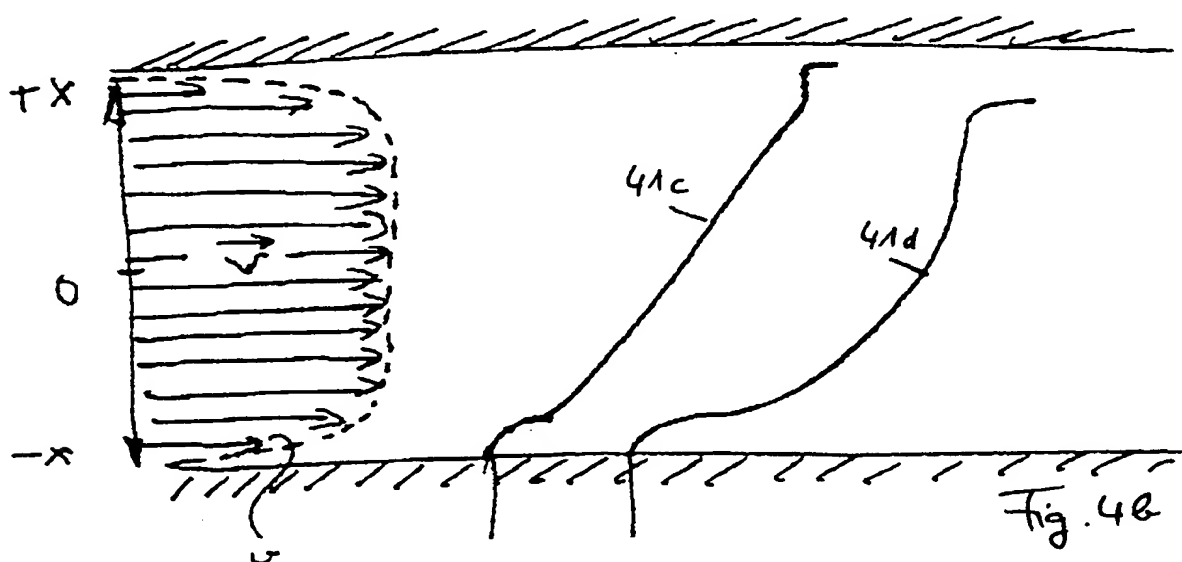
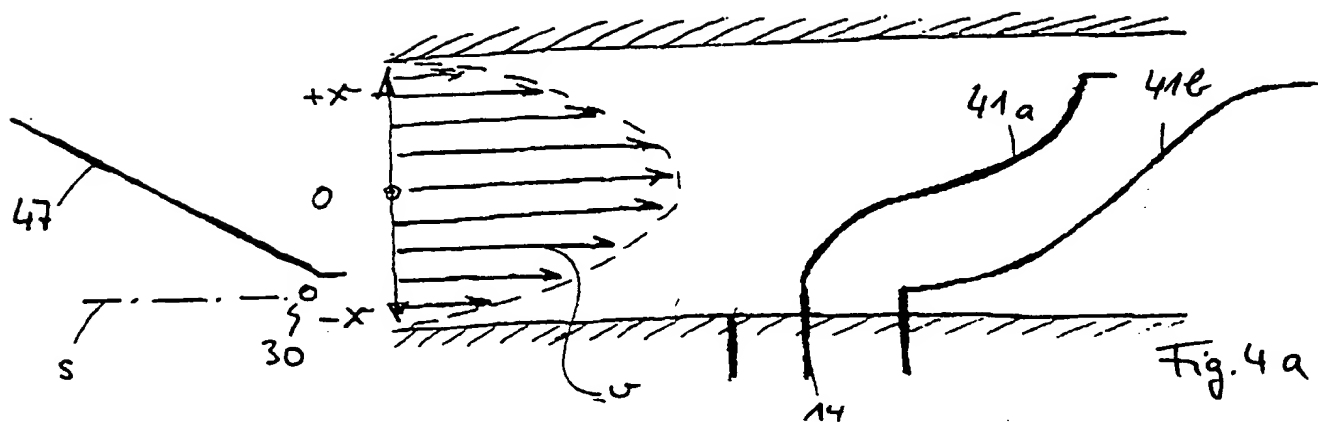


Fig. 3

THIS PAGE BLANK (USPTO)



THIS PAGE BLANK (USPTO)

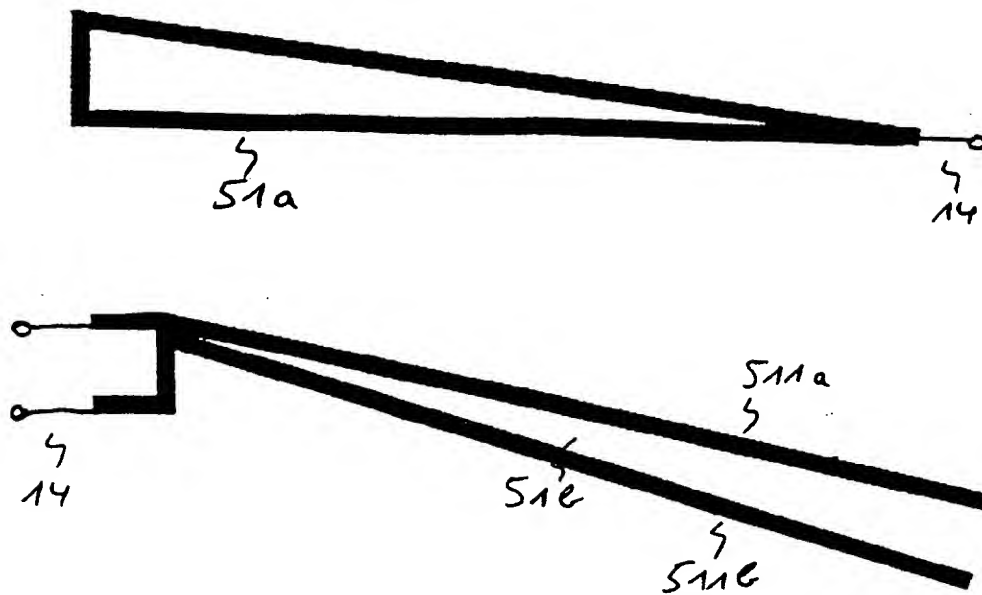


Fig. 5

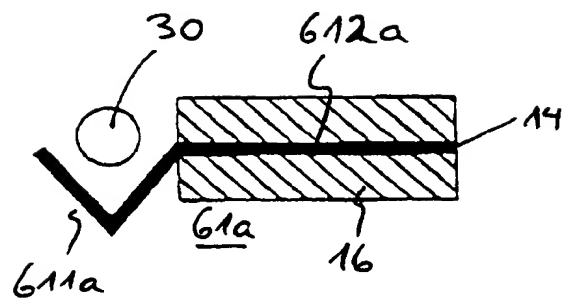


Fig. 6a

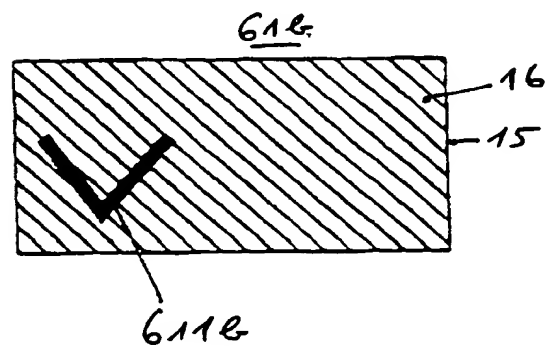


Fig. 6b

THIS PAGE BLANK (USPTO)

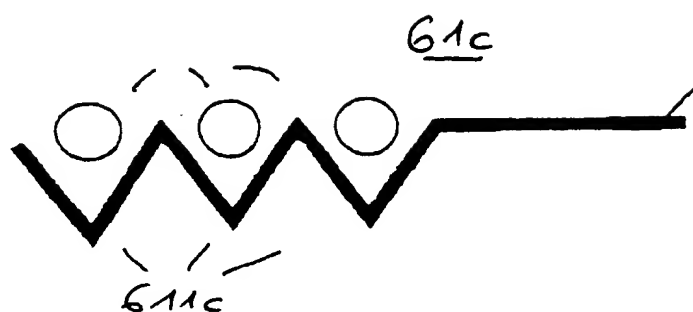
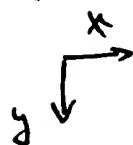


Fig. 6c

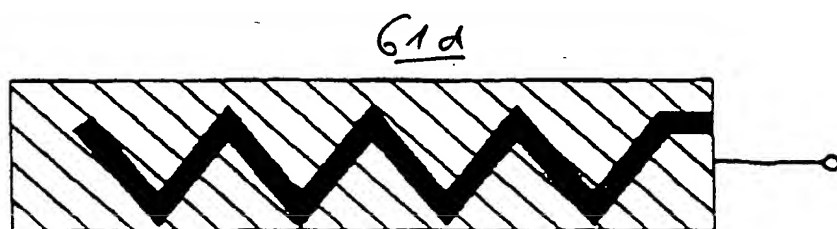
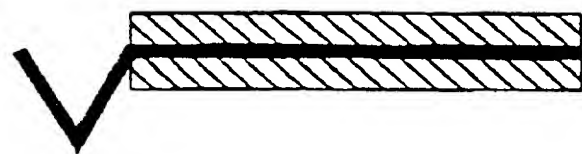
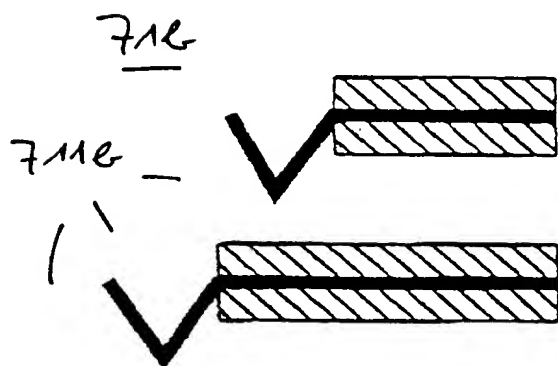
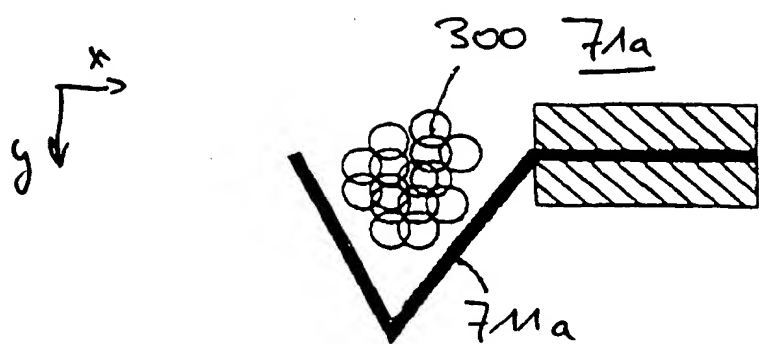


Fig. 6d



Fig. 6e

THIS PAGE BLANK (USPTO)



THIS PAGE BLANK (USPTO)

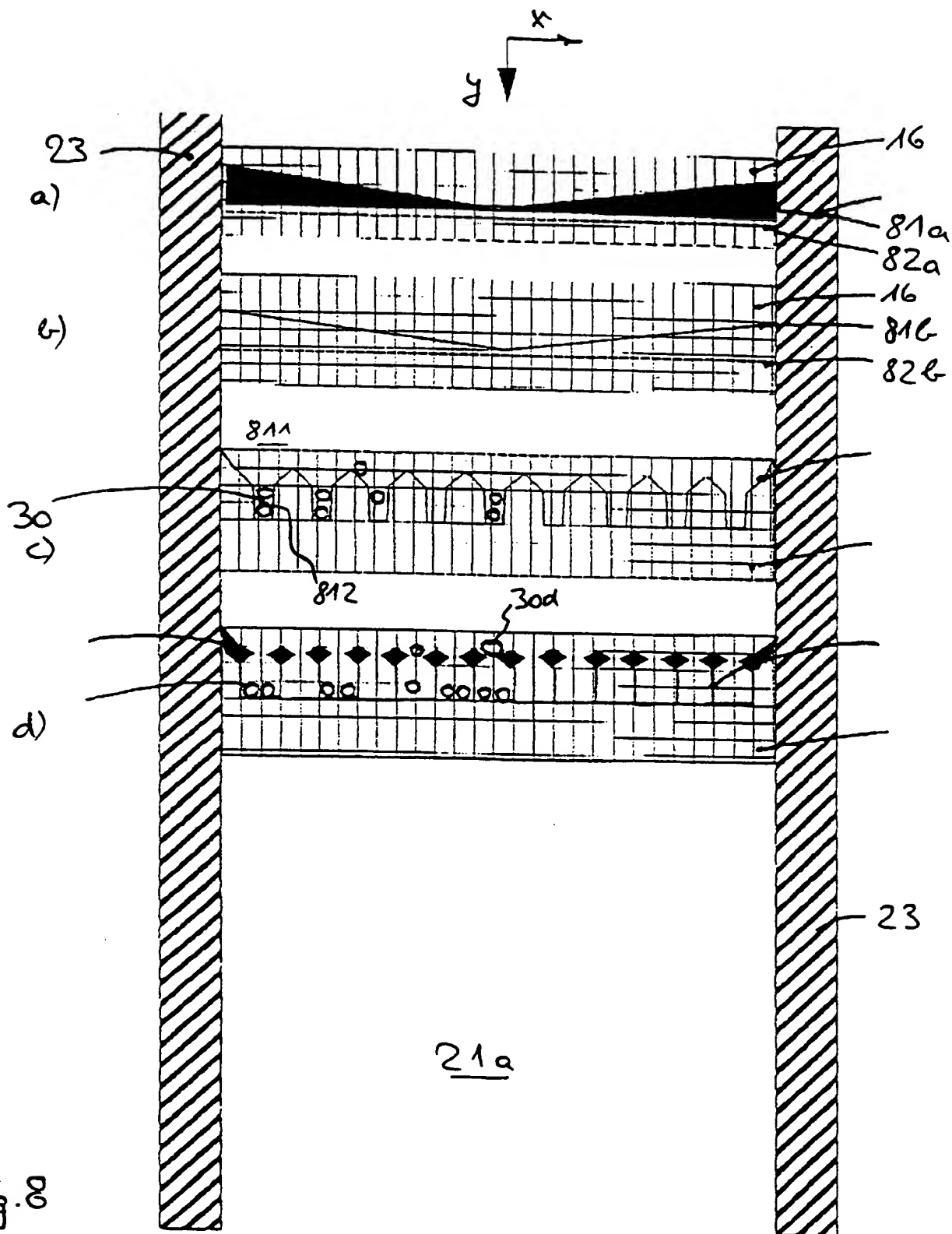
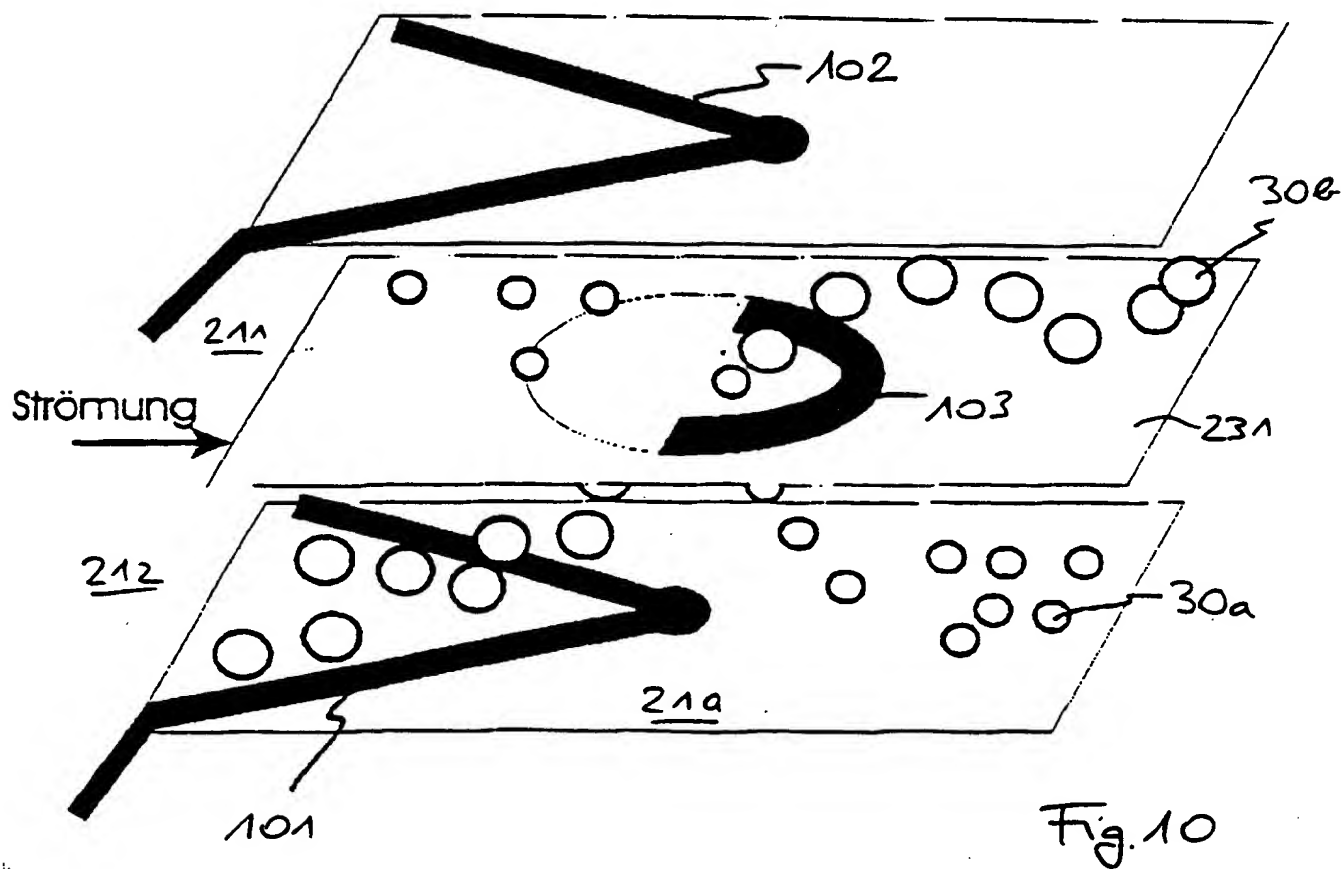
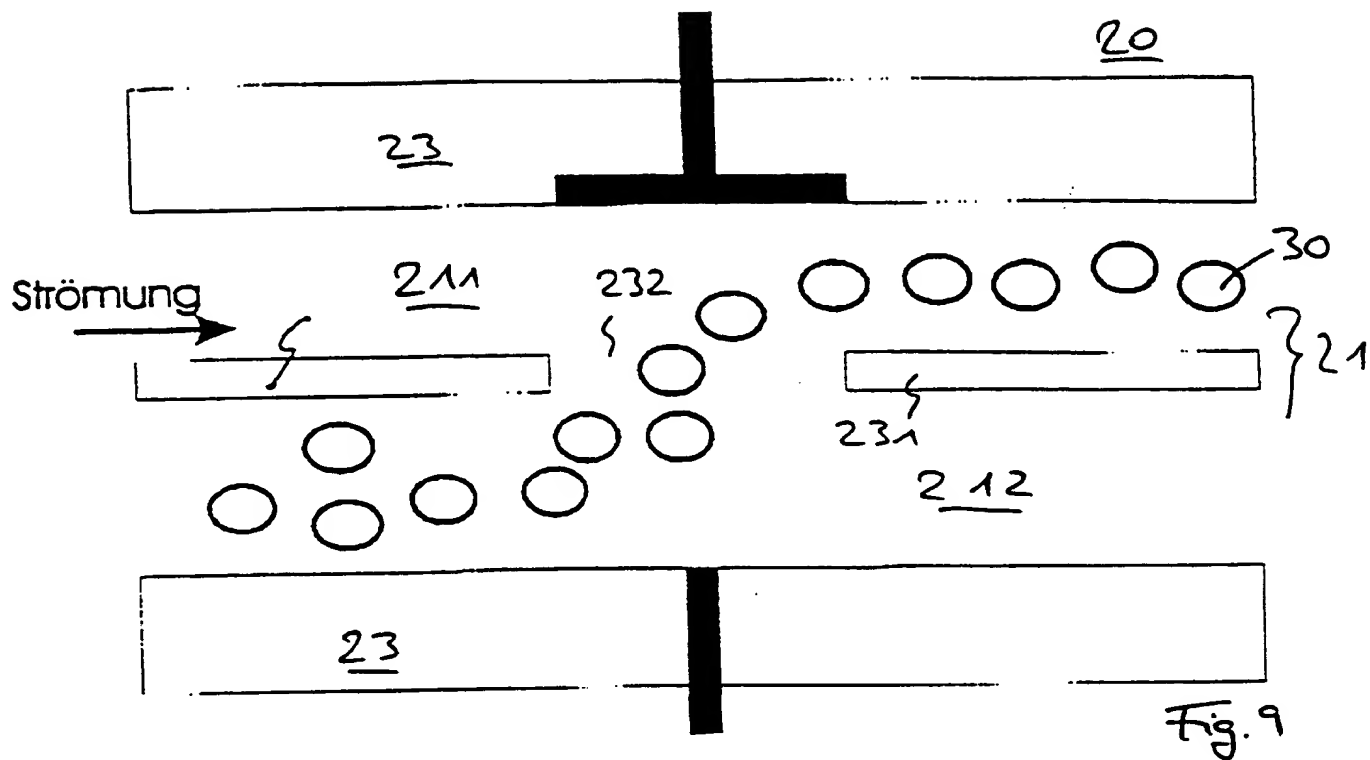


Fig. 8

THIS PAGE BLANK (USPTO)



THIS PAGE BLANK (USPTO)

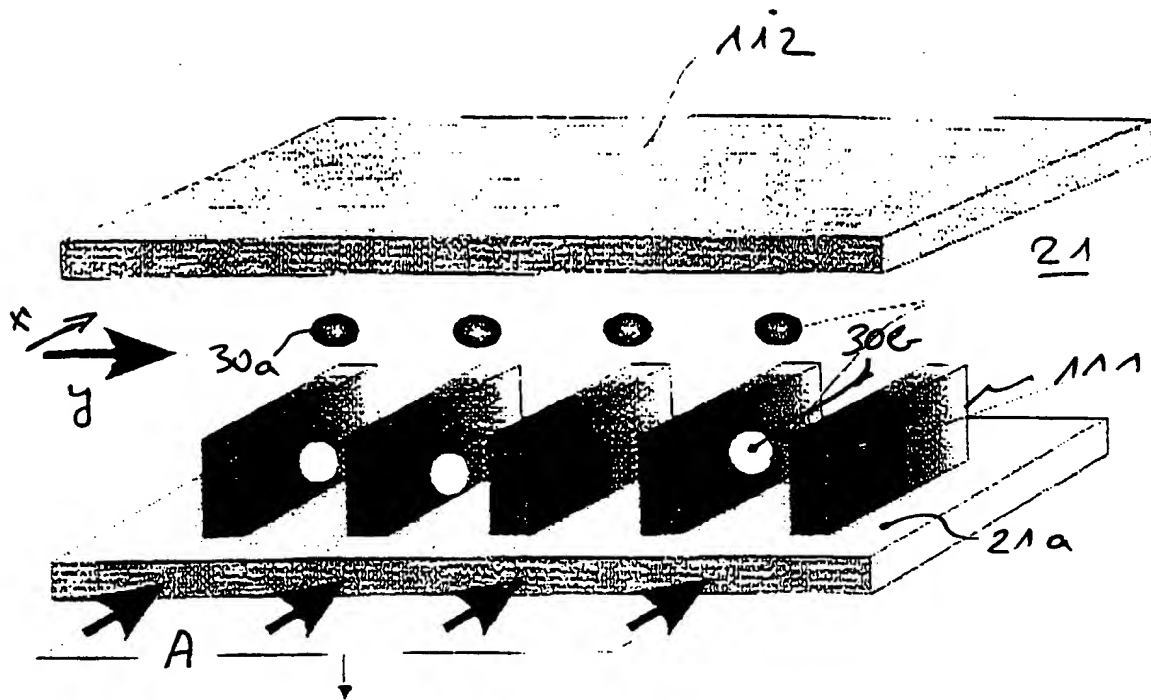


Fig. 11

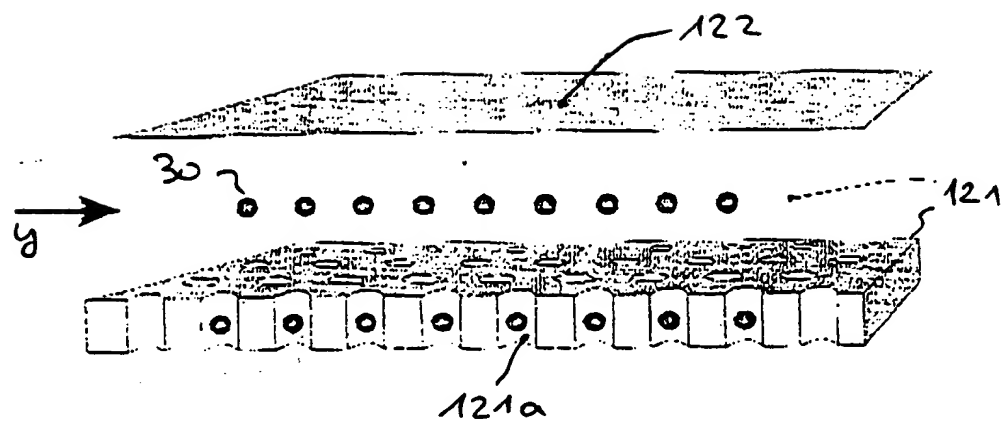


Fig. 12

THIS PAGE BLANK (USPTO)

11 / 14

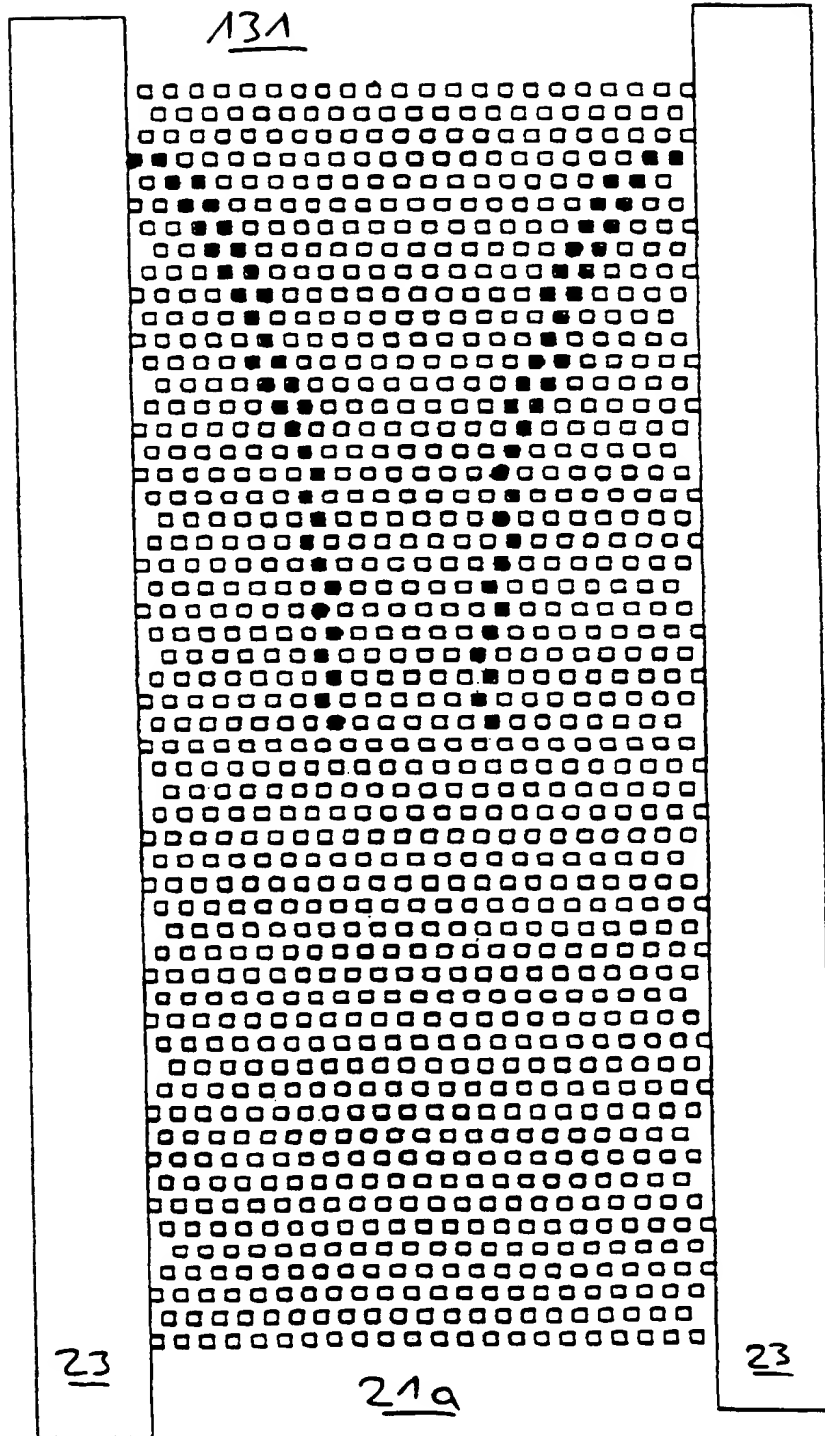
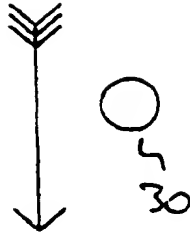


Fig. 13

THIS PAGE BLANK (USPTO)

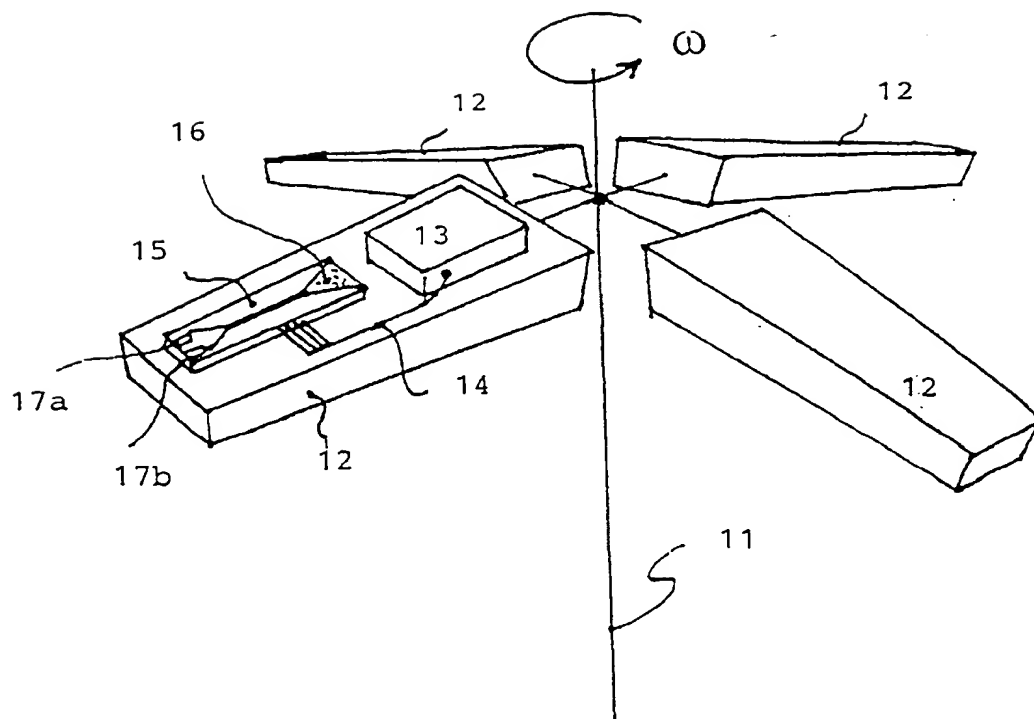


FIG. 14

THIS PAGE BLANK (USPTO)

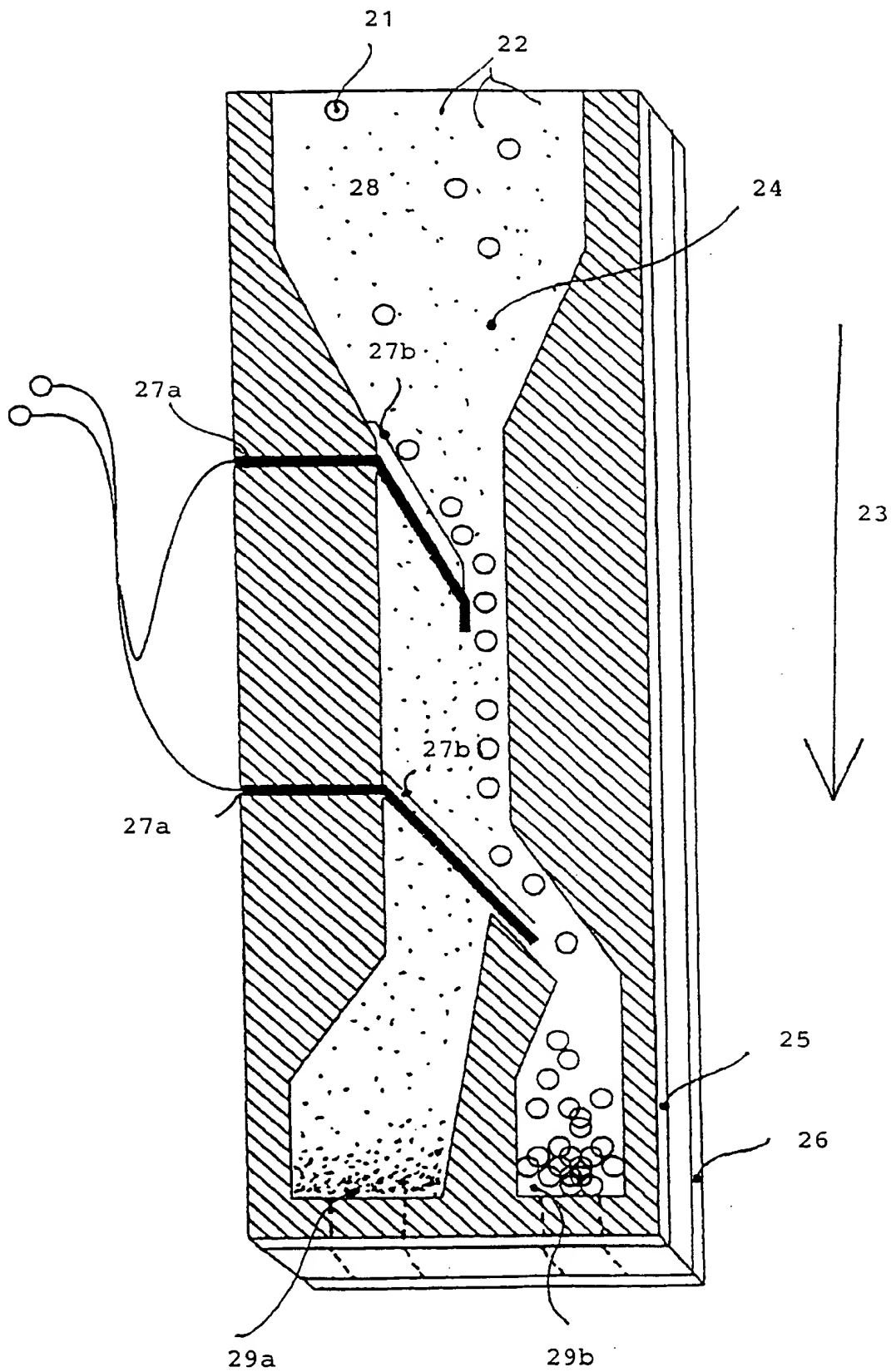


FIG. 15

THIS PAGE BLANK (USPTO)

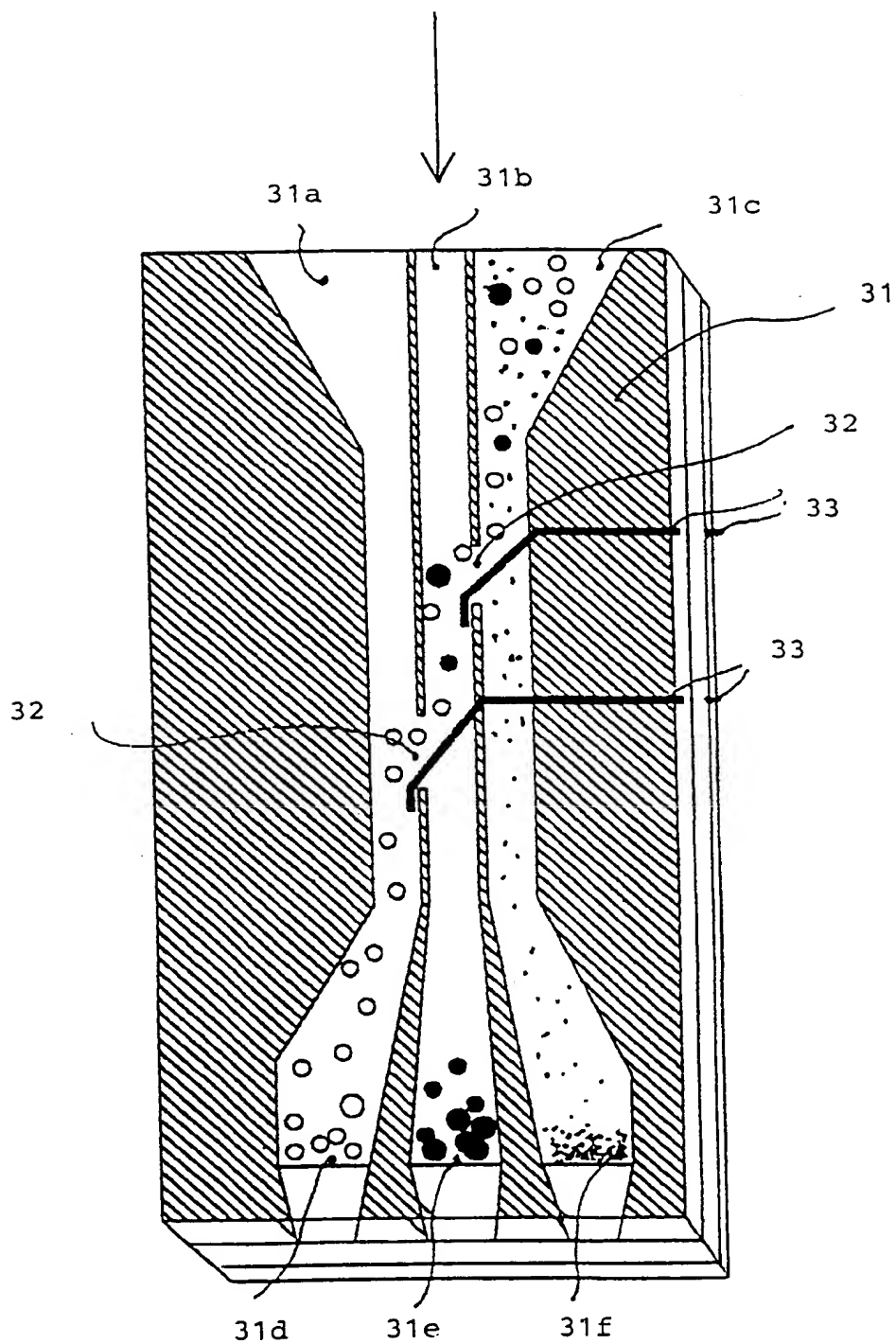


FIG. 16

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(51) Internationale Patentklassifikation⁶ :

B03C 5/02, G01N 15/04

A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/00293

(43) Internationales
Veröffentlichungsdatum:

6. Januar 2000 (06.01.00)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/04470

(22) Internationales Anmeldedatum: 28. Juni 1999 (28.06.99)

(30) Prioritätsdaten:

| | | |
|--------------|------------------------------|----|
| 198 28 626.0 | 26. Juni 1998 (26.06.98) | DE |
| 198 28 919.7 | 29. Juni 1998 (29.06.98) | DE |
| 198 53 658.5 | 20. November 1998 (20.11.98) | DE |
| 198 60 118.2 | 23. Dezember 1998 (23.12.98) | DE |

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): EVOTEC
BIOSYSTEMS AG [DE/DE]; Schnackenburgallee 114,
D-22525 Hamburg (DE).

(72) Erfinder; und

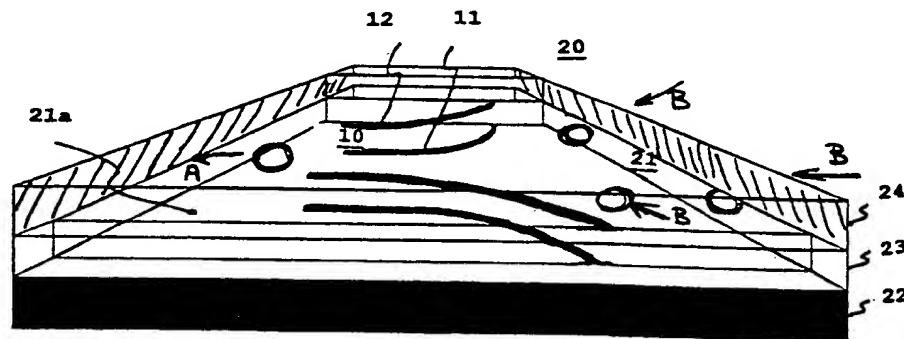
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): ~~L. PUHR~~, Günter [DE/DE];
Kavalierstrasse 15, D-13187 Berlin (DE). ~~SCHNELLE~~,
Thomas [DE/DE]; Koppenstrasse 65, D-10243 Berlin (DE).
~~HAGEDORN~~, Rolf [DE/DE]; Wartiner Strasse 16, D-13057
Berlin (DE). ~~MÜLLER~~, Torsten [DE/DE]; Harriegelstrasse
39, D-12439 Berlin (DE).(74) Anwalt: HERTZ, Oliver; v. Bezold & Sozien, Briener Strasse
52, D-80333 München (DE).(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE,
CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, SE).

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

(54) Title: ELECTRODE ARRANGEMENT FOR GENERATING FUNCTIONAL FIELD BARRIERS IN MICROSYSTEMS

(54) Bezeichnung: ELEKTRODENANORDNUNGEN ZUR ERZEUGUNG FUNKTIONELLER FELDBARRIEREN IN MIKROSYSTEMEN



(57) Abstract

The invention relates to an electrode arrangement in a microsystem which is installed in a channel for dielectrophoretically manipulating particles in a suspension liquid. At least one microelectrode is located on a side wall of the channel in order to generate a field barrier along a reference surface, said reference surface passing through the channel at least partially. The microelectrode has a predetermined curvature or predetermined angle in relation to the direction of flow in the channel so that the reference surface has a predetermined curvature in relation to the direction of flow. According to one embodiment, the particles move in the microsystem due to the effect of the centrifugal and/or gravitational forces.

(57) Zusammenfassung

Bei einer Elektrodenanordnung in einem Mikrosystem, das zur dielektrophoretischen Manipulierung von Teilchen in einer Suspensionsflüssigkeit in einem Kanal eingerichtet ist, wobei mindestens eine Mikroelektrode auf einer seitlichen Wand des Kanals zur Erzeugung einer Feldbarriere entlang einer Bezugsfläche angeordnet ist, die den Kanal zumindest teilweise durchsetzt, besitzt die Mikroelektrode eine vorbestimmte Krümmung oder vorbestimmte Winkel in Bezug auf die Strömungsrichtung im Kanal, so daß die Bezugsfläche eine vorbestimmte Krümmung relativ zur Strömungsrichtung besitzt. Gemäß einer Ausführungsform der Erfindung erfolgt die Teilchenbewegung im Mikrosystem unter der Wirkung von Zentrifugal- und/oder Gravitationskräften.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

| | | | | | | | |
|----|------------------------------|----|--------------------------------------|----|--|----|-----------------------------------|
| AL | Albanien | ES | Spanien | LS | Lesotho | SI | Slowenien |
| AM | Armenien | FI | Finnland | LT | Litauen | SK | Slowakei |
| AT | Österreich | FR | Frankreich | LU | Luxemburg | SN | Senegal |
| AU | Australien | GA | Gabun | LV | Lettland | SZ | Swasiland |
| AZ | Aserbaidshan | GB | Vereinigtes Königreich | MC | Monaco | TD | Tschad |
| BA | Bosnien-Herzegowina | GE | Georgien | MD | Republik Moldau | TG | Togo |
| BB | Barbados | GH | Ghana | MG | Madagaskar | TJ | Tadschikistan |
| BE | Belgien | GN | Guinea | MK | Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien | TM | Turkmenistan |
| BF | Burkina Faso | GR | Griechenland | ML | Mali | TR | Türkei |
| BG | Bulgarien | HU | Ungarn | MN | Mongolei | TT | Trinidad und Tobago |
| BJ | Benin | IE | Irland | MR | Mauretanien | UA | Ukraine |
| BR | Brasilien | IL | Israel | MW | Malawi | UG | Uganda |
| BY | Belarus | IS | Island | MX | Mexiko | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| CA | Kanada | IT | Italien | NE | Niger | UZ | Usbekistan |
| CF | Zentralafrikanische Republik | JP | Japan | NL | Niederlande | VN | Vietnam |
| CG | Kongo | KE | Kenia | NO | Norwegen | YU | Jugoslawien |
| CH | Schweiz | KG | Kirgisistan | NZ | Neuseeland | ZW | Zimbabwe |
| CI | Côte d'Ivoire | KP | Demokratische Volksrepublik Korea | PL | Polen | | |
| CM | Kamerun | KR | Republik Korea | PT | Portugal | | |
| CN | China | KZ | Kasachstan | RO | Rumänien | | |
| CU | Kuba | LC | St. Lucia | RU | Russische Föderation | | |
| CZ | Tschechische Republik | LI | Liechtenstein | SD | Sudan | | |
| DE | Deutschland | LK | Sri Lanka | SE | Schweden | | |
| DK | Dänemark | LR | Liberia | SG | Singapur | | |
| EE | Estland | | | | | | |

Elektrodenanordnungen zur Erzeugung funktioneller
Feldbarrieren in Mikrosystemen

Die Erfindung betrifft Elektrodenanordnungen zur Erzeugung funktioneller Feldbarrieren in Mikrosystemen, die zur Manipulierung suspendierter Teilchen eingerichtet sind, insbesondere funktionelle Mikroelektroden zur dielektrophoretischen Ablenkung von mikroskopischen Teilchen, und Mikrosysteme, die mit derartigen Elektrodenanordnungen ausgestattet sind sowie deren Verwendungen.

Die Manipulierung suspendierter Teilchen in fluidischen Mikrosystemen ist allgemein bekannt und wird beispielsweise von G. Fuhr et al. in "Naturwissenschaften", Bd. 81, 1994, S. 528 ff., beschrieben. Die Mikrosysteme bilden insbesondere Kanalstrukturen, die von einer Suspensionsflüssigkeit mit den zu manipulierenden Teilchen durchströmt werden. In der Regel besitzen diese Kanalstrukturen eine rechteckige Querschnittsfläche, wobei die in Betriebsposition unteren und oberen Kanalwände (Boden- und Deckflächen) eine größere Breite als die seitlichen Kanalwände (Seitenflächen) besitzen. In den Kanalstrukturen sind auf den Kanalwänden Mikroelektroden angebracht, die mit hochfrequenten elektrischen Feldern beaufschlagt werden. Unter der Wirkung der hochfrequenten elektrischen Felder werden in den suspendierten Teilchen auf der Basis negativer oder positiver Dielektrophorese Polarisationskräfte erzeugt, die eine Abstoßung von den Elektroden und in Zusammenarbeit mit Strömungskräften in der Suspensionsflüssigkeit eine Manipulierung der Teilchen im Kanal erlauben. Die Mikroelektroden herkömmlicher Mikrosysteme sind in der Regel auf den jeweils breiteren Kanalwänden als gerade Elektrodenbänder angebracht.

Zur Erzeugung der für die Dielektrophorese wirksamen hochfrequenten elektrischen Felder wirken jeweils zwei Elektrodenbänder zusammen, die an gegenüberliegenden Kanalwänden mit jeweils gleicher Gestalt und Ausrichtung angebracht sind. Die geraden Elektrodenbänder verlaufen beispielsweise parallel zur Kanalausrichtung bzw. Strömungsrichtung der Suspensionsflüssigkeit im jeweiligen Kanalabschnitt oder unter einem vorbestimmten Winkel schräg zur Kanalausrichtung. Die Elektrodenbänder besitzen zur wirksamen und sicheren Ausbildung der Polarisationskräfte an den zu manipulierenden Teilchen eine Länge, die die charakteristische Dimension der Teilchen um ein Vielfaches (Faktor rd. 20 bis 50) übersteigt.

Die herkömmlichen Mikrosysteme besitzen Nachteile in Bezug auf die Wirksamkeit der Erzeugung von Polarisationskräften, die Stabilität und Lebensdauer der Mikroelektroden und die eingeschränkte Fähigkeit, Kräftegradienten innerhalb der Kanalstruktur zu erzeugen. Diese Nachteile hängen insbesondere mit den über verhältnismäßig große Längen im Kanal gebildeten Elektrodenbändern zusammen. Je länger ein Elektrodenband ist, desto länger befindet sich ein vorbeiströmendes Teilchen im Wirkungsbereich des Elektrodenbandes, so daß auch die Wirksamkeit der jeweiligen Mikroelektrode bzw. der durch sie erzeugten Feldbarriere steigt. Andererseits sind die langen Elektrodenbänder auch stör anfälliger. Durch Herstellungsfehler oder mechanische Beanspruchungen können Unterbrechungen auftreten, die zum Elektrodenausfall führen. Ferner wurden die Mikroelektroden bisher zur Erzielung einer über die Kanallänge gleichbleibenden und damit reproduzierbaren Kraftwirkung auf die genannte gerade Elektrodengestaltung beschränkt.

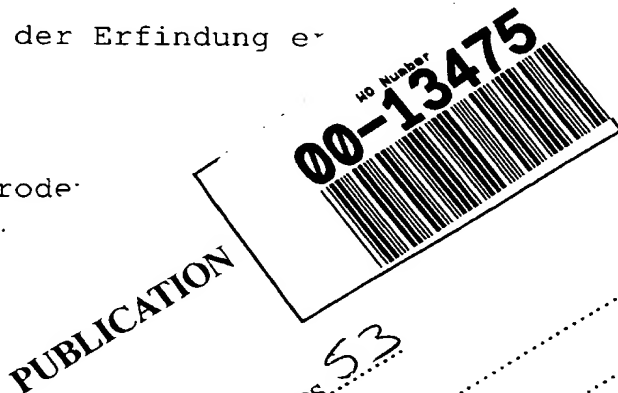
Aufgrund der genannten Nachteile ist auch der Einsatzbereich der genannten fluidischen Mikrosysteme mit dielektrophoretischer Teilchenmanipulierung auf die Führung der Teilchen in

der Kanalstruktur oder die Ablenkung von Teilchen aus einer gegebenen Strömung beschränkt.

Die Aufgabe der Erfindung ist es, verbesserte Elektrodenanordnungen für Mikrosysteme mit dielektrophoretischer Teilchenablenkung zu schaffen, mit denen die Nachteile herkömmlicher Mikrosysteme überwunden werden und die insbesondere einen erweiterten Anwendungsbereich besitzen und ermöglichen, auch über kürzere Kanalabschnitte wirksame Feldbarrieren zu erzeugen. Die Aufgabe der Erfindung ist es auch, neuartige Mikrosysteme, die mit derart verbesserten Elektrodenanordnungen ausgestattet sind, und Anwendungen derartiger Mikrosysteme anzugeben.

Diese Aufgabe wird durch Elektrodenanordnungen mit den Merkmalen gemäß dem Patentanspruch 1 gelöst. Vorteilhafte Ausführungsformen und Anwendungen der Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

Eine erfindungsgemäße Elektrode ist zu einer Vorrichtung eingerichtet, in einem Mikrokanal vorbestimmter Bezugsflächengröße teilweise über die Breite des Kanals gestreckt und vorbestimmt angeordnet, um die Strömung des Kanals, zur Bewegung von Teilchen (z.B. Teilchen) im Kanal oder zur Bewegung von Teilchen (z.B. Teilchen) zu besitzen. Mit der Vorrichtung in diesem Zusammenhang nicht nur eine Elektrode bezeichnet, sondern ein Raumbereich, in dem die Wirkung der jeweiligen Mikroelektroden eine Feldbarriere zur dielektrischen Beeinflussung von Teilchen im Mikrosystem ausgebildet ist, die im wesentlichen einem Bereich entspricht, in dem die Feldlinien der wirksamen Mikroelektroden durch den Kanal erstreckt sind bei zusammenwirkenden Mikroelektroden.



Nombre de pages 53
BD/AB 1

BD/AB 2

DE 3

CL 36

DR 40

SR 48

SR 51

Contrôlé par Scanned
Nb de copies Ar

gekrümmte Hyperfläche zwischen den Mikroelektroden oder bei einzeln wirkenden Mikroelektroden als Hyperfläche, die die Feldlinienverteilung der einzeln wirkenden Mikroelektrode umspannt. Die Bezugsflächen definieren die Orte, an denen Polarisationskräfte in den mikroskopischen Teilchen wirksam erzeugt werden können. Die Mikroelektroden werden so ausgebildet, daß die Bezugsflächen je nach der angestrebten Funktion der jeweiligen Mikroelektroden eine vorbestimmte Krümmung in Bezug auf die Bewegungsrichtung der Teilchen im Mikrosystem besitzen, so daß eine optimale Zusammenwirkung der Polarisationskräfte und der mechanischen Kräfte erzielt wird. Daher werden die Feldbarrieren hier auch als funktionelle Feldbarrieren bezeichnet. Der hier benutzte Begriff "Krümmung" bezieht sich nicht auf die Krümmung von Feldlinien an geraden Mikroelektroden durch das Austreten der Feldlinien in den angrenzenden Raum. Die Krümmung bezeichnet vielmehr die Gestaltung der an Mikroelektroden ausgebildeten Feldbarrieren.

Die Feldbarrieren mit den erfindungsgemäß gekrümmten Bezugsflächen werden vorzugsweise nach einer der drei folgenden Grundformen gestaltet. Gemäß einer ersten Variante besteht eine erfindungsgemäße Elektrodenanordnung aus mindestens einer bandförmigen, gekrümmten Mikroelektrode, die sich auf der breiteren Kanalwand (Boden- und/oder Deckfläche) zumindest teilweise über die Kanalbreite erstreckt. Bei einer zweiten Variante ist mindestens eine Mikroelektrode vorgesehen, die an der schmaleren Kanalwand (Seitenfläche) angebracht ist. Bei der dritten Variante sind mindestens eine Mikroelektrode auf der Boden- und/oder Deckfläche des Kanals und mindestens eine Hilfselektrode mit Abstand von der Boden- oder Seitenfläche des Kanals angebracht. Die Hilfselektrode liefert eine Deformation der von der Mikroelektrode oder den Mikroelektroden an den Boden- bzw. Seitenflächen des Kanals ausgehenden Feldlinien, so daß die erfindungsgemäß gekrümmten Bezugsflächen gebildet werden. Bei allen Varianten können die jeweiligen Elektro-

den (Mikroelektroden, Hilfselektroden) an sich band- oder punktförmig oder flächig ausgebildet sein. Die Elektrodenanordnungen der zweiten und dritten Variante werden auch als dreidimensionale Elektrodenanordnungen bezeichnet, da dabei Mikroelektroden eingesetzt werden, die aus den Ebenen der Boden- oder Seitenflächen des Kanals herausragen oder von diesen mit Abstand angeordnet sind.

Gegenstand der Erfindung ist somit die Optimierung von Mikroelektroden in Bezug auf ihre Wirkung auf suspendierte Teilchen, die natürliche oder synthetische Teilchen umfassen können, z.B. zur Erzeugung maximaler Kräfte bei gleichzeitig minimierten elektrischen Verlusten.

Die Erfindung besitzt die folgenden Vorteile. Die Gestaltung der Mikroelektroden kann z.B. an das Strömungsprofil in der Suspensionsflüssigkeit angepaßt werden. Dies liefert den Vorteil, daß die Mikroelektroden kürzer ausgebildet werden und zur Erzeugung geringerer Barrieren ausgelegt sein können, jedoch die gleiche Effektivität wie herkömmliche Mikroelektroden in Form gerader Bänder besitzen. Dies wirkt sich vorteilhaft auf die Lebensdauer und Funktionstüchtigkeit der Mikroelektroden und somit der gesamten Mikrosysteme aus. Außerdem kann der in einem Mikrosystem verfügbare Platz effektiver genutzt werden. Es werden ferner Elektrodenanordnungen bereitgestellt, mit denen Gradienten und somit in Abhängigkeit vom jeweiligen Kanalbereich verschieden starke Kräfte erzeugt werden können. Es ist beispielsweise vorgesehen, daß die Feldbarrieren der Mikroelektroden so gestaltet sind, daß an den Teilchen in der Mitte des Kanals größere Polarisationskräfte ausgeübt werden als am Rand des Kanals.

Die erfindungsgemäße Ausbildung von Feldbarrieren entlang gekrümmter Bezugsflächen ermöglicht auch die Schaffung neuartiger Anwendungen von Mikrosystemen, insbesondere zum Lenken von

suspendierten Teilchen in bestimmte Kanalbereiche, zum Sortieren von suspendierten Teilchen nach ihren passiven elektrischen Eigenschaften oder zum Sammeln oder Haltern suspendierter Teilchen in bestimmten Kanalabschnitten. Zur letztgenannten Anwendung werden die Mikroelektroden mit einer geometrischen Ausformung zur Halterung der Teilchen in einem Lösungsstrom oder zur Erzeugung einer Teilchenformation ausgebildet. All die genannten Anwendungen liefern eine gegenüber dem Mikrosystem berührungsfreie Manipulierung der suspendierten Teilchen, was besonders wesentlich für die Manipulierung biologischer Zellen oder Zellbestandteile ist.

Bevorzugte Anwendungen liegen in der Mikrosystemtechnik zur Separation, Manipulierung, Beladung, Fusion, Permeation, Pärchenbilden und Aggregatformation von mikroskopisch kleinen Teilchen.

Gemäß einer besonderen Ausführungsform der Erfindung erfolgt die Teilchenbewegung in einem Mikrosystem mit herkömmlichen oder erfindungsgemäßen Elektrodenformen unter der Wirkung von Zentrifugal- und/oder Gravitationskräften.

Weitere Einzelheiten und Vorteile der Erfindung werden aus den im folgenden beschriebenen Zeichnungen ersichtlich. Es zeigen:

Fig. 1a bis 1d: schematische Perspektivansichten einer Kanalstruktur mit Mikroelektroden zur Erzeugung von Feldbarrieren in einem Mikrokanal und Beispiele erfindungsgemäß gekrümmter Bezugsflächen;

Fig. 2: eine schematische Draufsicht auf bandförmige, gekrümmte Mikroelektroden;

Fig. 3: eine schematische Draufsicht auf eine

abgewandelte Gestaltung bandförmiger,
gekrümmter Mikroelektroden;

- Fig. 4a bis 4c: schematische Ansichten zur Illustration von Sortierelektroden zur Teilchensortierung;
- Fig. 5a und 5b: schematische Ansichten von Mikroelektroden zur Erzeugung von Feldgradienten;
- Fig. 6a bis 6e: schematische Ansichten erfindungsgemäßer bandförmiger Fangelektroden;
- Fig. 7a bis 7c: weitere Ausführungsformen erfindungsgemäßer Fangelektroden;
- Fig. 8: eine Draufsicht auf verschiedene Elektrodenanordnungen zur Erzeugung von gekrümmten Feldbarrieren;
- Fig. 9: eine schematische Ansicht einer Elektrodenanordnung an Seitenwänden eines Kanals;
- Fig. 10 bis 12: verschiedene Ausführungsformen dreidimensionaler Elektrodenanordnungen;
- Fig. 13: eine schematische Draufsicht auf eine segmentierte Elektrodenanordnung; und
- Fig. 14 bis 16 weitere Ausführungsformen der Erfindung mit einem Mikrosystem mit Zentrifugal- und/oder Gravitationsantrieb der Teilchenbewegung.

Fig. 1a zeigt in schematischer Form beispielhaft die Ausführung von Mikroelektroden zur Erzeugung von Feldbarrieren in Mikrokanälen. Das fluidische Mikrosystem 20 ist ausschnittsweise in überhöht perspektivischer Seitenansicht einer Kanalstruktur dargestellt. Der Kanal 21 wird durch zwei mit Abstand auf einem Substrat 22 angeordnete Spacer 23 gebildet, die ein Deckteil 24 tragen. Die Kanalbreite und -höhe betragen rd. 200 μm bzw. 40 μm , können aber auch kleiner sein. Derartige Strukturen werden beispielsweise mit den an sich bekannten Prozessierungstechniken der Halbleitertechnologie hergestellt. Das Substrat 22 bildet die Bodenfläche 21a des Kanals 21. Dementsprechend wird die Deckfläche 21b (aus Übersichtlichkeitsgründen nicht gesondert hervorgehoben) durch das Deckteil 24 gebildet. Die Elektrodenanordnung 10 besteht aus Mikroelektroden 11, 12, die auf der Bodenfläche 21a bzw. auf der Deckfläche 21b angebracht sind. Jede der Mikroelektroden 11, 12 besteht aus gekrümmten Elektrodenbändern, die unten näher beschrieben werden.

In Fig. 1a bilden die Elektrodenbänder eine Elektrodenstruktur, die im einzelnen unten unter Bezug auf die Fig. 2 erläutert wird. Die anderen, im folgenden beschriebenen Ausführungsformen erfindungsgemäßer Elektrodenanordnungen können entsprechend auf den Boden-, Deck- und/oder Seitenflächen des Kanals 21 angebracht sein. Der Mikrokanal 21 wird von einer Suspensionsflüssigkeit durchströmt (im Bild von rechts nach links), in der Partikel 30 suspendiert sind. Die in Fig. 1a dargestellte Elektrodenanordnung 10 besitzt beispielsweise die Aufgabe, die Partikel 30 von verschiedenen Bewegungsbahnen innerhalb des Kanals auf eine mittlere Bewegungsbahn gemäß Pfeil A zu führen. Hierzu werden die Mikroelektroden 11, 12 derart mit elektrischen Potentialen beaufschlagt, daß sich im Kanal elektrische Feldbarrieren ausbilden, die die von rechts anströmenden Teilchen hin zur Kanalmitte (Pfeilrichtungen B) zwingen.

Die typischen Abmessungen der Mikroelektroden 11, 12 liegen bei einer Breite von 0,1 bis zu einigen zehn Mikrometern (typischerweise 5 ... 10 μm), einer Dicke von 100 nm bis zu einigen Mikrometern (typischerweise 200 nm) und einer Länge von bis zu mehreren hundert Mikrometern. Das Innere des Kanals 21 wird durch die auf der Ober- und Unterseite der Teile 23, 24 prozessierten Elektroden auf Grund der geringfügigen Dicke der Elektroden nicht eingeschränkt. Das Teil 23 ist ein Spacer, dessen Strukturierung die seitlichen Kanalwände bildet.

Die Mikroelektroden 11, 12 werden mittels hochfrequenter elektrischer Signale (typischerweise mit einer Frequenz im MHz-Bereich und einer Amplitude im Voltbereich) angesteuert. Die jeweils gegenüberliegenden Elektroden 11a, 11b bilden ein Ansteuerpaar, wenngleich auch die in einer Ebene liegenden Elektroden in ihrer Ansteuerung (Phase, Frequenz, Amplitude) zusammenwirken können. Das durch den Kanal 21, d.h. senkrecht zur Strömungsrichtung erzeugte elektrische Hochfrequenzfeld wirkt auf suspendierte Teilchen 30 (die auch lebende Zellen oder Viren sein können) polarisierend. Bei den genannten Frequenzen und geeigneter Leitfähigkeit der die Teilchen umgebenden Suspensionsflüssigkeit werden die Teilchen von den Elektroden abgestoßen. Damit läßt sich der hydrodynamisch offene Kanal 21 über die elektrischen Felder an- und abschaltbar strukturieren, kompartmentieren bzw. lassen sich die Bewegungsbahnen der Teilchen im passiven Strömungsfeld beeinflussen. Desweiteren ist es möglich, die Teilchen trotz permanenter Strömung zu retardieren bzw. auch ortsstabil ohne Berührung einer Oberfläche zu positionieren. Die Art und Ausführung der dazu gebildeten Elektrodenanordnungen ist auch Gegenstand der Erfindung.

Im folgenden werden Gestaltungsformen erfindungsgemäßer Elektrodenanordnungen beschrieben, wobei aus Übersichtlichkeitsgründen in den Figuren 2 bis 13 ggf. nur eine planare Elektrodenanord-

nung (oder Teile einer solchen), z.B. auf der Bodenfläche des Kanals, dargestellt ist.

Die Fig. 1b bis 1c zeigen die Grundformen von Feldbarrieren oder elektromagnetischen Begrenzungen, die mit erfindungsgemäßen Elektrodenanordnungen gemäß den obengenannten Varianten realisiert werden. Die Illustrationen sind Prinzipdarstellungen der Bezugsflächen, auf denen die Feldbarrieren mit erfindungsgemäßen Mikroelektroden ausgebildet werden. Aus Übersichtlichkeitsgründen sind jeweils nur Teile der Seitenfläche (Spacer 23) und der Bodenfläche 21a des Kanals, die Mikroelektroden 11, 12 und der Verlauf der Bezugsflächen (schraffiert) gezeigt.

Gemäß der obengenannten ersten Variante wird die Feldbarriere im Kanal zwischen zwei gekrümmten Mikroelektroden 11, 12 auf den Boden- bzw. Deckflächen des Kanals gebildet (Fig. 1b). Die Bezugsfläche der Feldbarriere (schraffiert dargestellt) verläuft entsprechend als gekrümmte, auf den Boden- und Deckflächen senkrecht stehende Fläche. Sind die Mikroelektroden 11, 12 beispielsweise entsprechend einem bestimmten hyperbolischen Strömungsprofil gekrümmt (s. unten), so bildet die Bezugsfläche den Ausschnitt der Mantelfläche eines hyperbolischen Zylinders. Falls die Mikroelektroden 11, 12 nicht genau übereinander angeordnet sind, so wird die Bezugsfläche auch noch in Bezug auf die Boden- und Deckflächen des Kanals schiefwinklig.

Gemäß Fig. 1c umspannt die schraffiert dargestellte Bezugsfläche einen Raumbereich, der von Feldlinien durchsetzt wird, die von einer Mikroelektrode 11 an einer Seitenfläche des Kanals zu einer Mikroelektrode 12 an der gegenüberliegenden Seitenfläche verlaufen. Beim dargestellten Beispiel besitzt die erste Mikroelektrode 11 eine größere Fläche als die zweite Mikroelektrode 12, so daß bei der letzteren eine Feldlinienkonzentration auftritt. Dadurch sind die von der Feldbarriere auf suspendierte Teilchen wirkenden Polarisationskräfte nahe

der zweiten Mikroelektrode 12 größer als nahe der ersten Mikroelektrode 11 (s. auch Fig. 9).

Die obengenannte dritte Variante mit einer dreidimensionalen Elektrodenanordnung ist in Fig. 1d illustriert. Die Mikroelektroden 11, 12 befinden sich auf den Boden- bzw. Deckflächen des Kanals, während die Hilfselektrode 13 mit einer geeigneten Halterung in der Kanalmitte angeordnet ist (s. auch Fig. 10). Durch die Hilfselektrode 13 werden die Feldlinien zwischen den Mikroelektroden 11, 12 verzerrt, so daß sich die schraffiert dargestellte, gekrümmte Bezugsfläche (teilweise gezeigt) ergibt.

Die illustrierten Bezugsflächen stellen lediglich die Position der Feldbarrieren dar, ohne auch die in den entsprechenden Bereichen wirkenden Kräfte, d.h. die Höhe der Feldbarrieren, zu illustrieren. Die wirkenden Kräfte hängen im wesentlichen von der Feldliniendichte und den passiven elektrischen Eigenschaften der zu manipulierenden Teilchen im jeweiligen Kanalbereich ab. Die erfindungsgemäßen funktionellen Feldbarrieren werden somit durch die geometrische Gestalt der zusammenwirkenden Mikroelektroden sowohl in Bezug auf deren Form (Krümmungen usw.), da die dielektrophoretischen Abstoßungskräfte im wesentlichen senkrecht auf den Bezugsflächen stehen, als auch in Bezug auf deren Flächen (Feldliniendichte) beeinflusst.

Eine erfindungsgemäße Elektrodenanordnung 10 entsprechend der obengenannten ersten Variante ist in Fig. 2 dargestellt. Auf der Bodenfläche 21a des seitlich durch die Spacer 23 begrenzten Kanals eines Mikrosystems sind Mikroelektroden 11a, 11b angeordnet. Die Mikroelektroden 11a, 11b werden über die Steuerleitungen 14 mit hochfrequenten elektrischen Potentialen beaufschlagt und wirken zur Bildung eines sogenannten Partikeltrichters wie folgt zusammen.

Die Elektrodenanordnung 10 ist dazu vorgesehen, die zunächst in der gesamten Kanalbreite bzw. dem gesamten Kanalvolumen anströmenden Teilchen 30a berührungslos auf eine Mittellinie des Kanals zu fokussieren, wie dies durch die Position des Teilchens 30b illustriert ist. Der Vorteil dieser Anordnung besteht in der Optimierung der Elektrodenbänder in Bezug auf die Sicherheit der Ablenkung (Fokussierung) der suspendierten Teilchen, die Verkürzung der Elektrodenanordnung in Kanallängsrichtung und die Verringerung der elektrischen Verluste an den Mikroelektroden.

Bei dieser Ausführungsform der Erfindung besteht die Grundidee der Gestaltung der Mikroelektroden darin, die Krümmung der durch die Feldbarriere gebildeten Bezugsflächen an die Strömungskräfte im Kanal anzupassen. In Mikrosystemen mit Kanaldimensionen unterhalb von 500 μm erfolgt nämlich wegen der bei diesen Dimensionen geringen Reynolds-Zahlen die Ausbildung laminarer Strömungen mit vorbestimmten Strömungsprofilen. Die Strömungsgeschwindigkeit in der Nähe der Kanalwände ist geringer als in der Kanalmitte (Strömungsgeschwindigkeit unmittelbar an der Kanalwand gleich Null). Dadurch treten in der Nähe der Kanalwände geringere Strömungskräfte als in der Kanalmitte auf. Dies ermöglicht eine Manipulierung der Teilchen am Kanalrand mit geringeren Polarisationskräften oder mit steiler gegen die Strömungskräftegerichteten Polarisationskräften als in der Kanalmitte. Das Zusammenwirken der Strömungs- und Polarisationskräfte wird unten erläutert. Werden entlang der gesamten Länge der Mikroelektroden im wesentlichen gleiche Polarisationskräfte ausgebildet, so genügt es für eine sichere Ablenkung, daß die zu manipulierenden Teilchen am Kanalrand auf steiler in den Kanal ragende Mikroelektroden treffen als in der Kanalmitte. Dies erlaubt eine wesentliche Verkürzung der Mikroelektroden (s. unten).

Die auf die Teilchen wirkenden Kräfte sind in Fig. 2 beispielhaft in einzelnen Abschnitten der Mikroelektrode 11a illustriert. Die jeweilige Gesamtkraft setzt sich aus der elektrisch induzierten Abstoßungskraft F_P (Polarisationskraft) und der Antriebskraft F_S zusammen, die durch die Strömung der Suspensionsflüssigkeit oder auch von außen (z.B. in Zentrifugalsystemen als Zentrifugalkraft) ausgeübt wird. Die resultierende Gesamtkraft F_R ergibt sich durch Vektoraddition der Kräfte F_P und F_S . Schneidet der Vektor der Gesamtkraft F_R die Feldbarriere der Mikroelektrode 11a nicht, so wird ein Teilchen sicher abgelenkt. Die Kräftediagramme in Fig. 2 illustrieren, daß die Antriebskraft F_S hin zur Kanalmitte zunimmt. Zur Erfüllung der genannten Bedingung zur sicheren Teilchenablenkung ändert sich dementsprechend der Winkel zwischen der Ausrichtung der Mikroelektrode 11a und der Kanallängsrichtung von einem steileren Winkel am Kanalrand hin zu einem geringen Winkel (nahezu Parallelität) in Kanalmitte.

Die Mikroelektroden 11a, 11b sind somit in Abhängigkeit vom Strömungsprofil gekrümmt ausgebildet. Bei der dargestellten Ausführungsform besteht jede der bandförmigen Mikroelektroden aus einer Vielzahl jeweils gerader Elektrodenabschnitte. Bei einer abgewandelten Ausführungsform kann aber auch ein stetiger Krümmungsverlauf vorgesehen sein. Der Krümmungsverlauf ist entsprechend den in laminaren Strömungen auftretenden parabel- oder hyperbelförmigen Strömungsprofilen entsprechend auch parabel- oder hyperbelförmig.

Die Mikroelektroden 11a, 11b bilden erfindungsgemäß die Feldbarrieren entlang einer gekrümmten Bezugsfläche.

Die Mikroelektroden 11c, 11d sind in der Praxis nicht vorgesehen und dienen in der Darstellung dem Vergleich einer erfindungsgemäßen Anordnung von polygonal gekrümmten Mikroelektroden mit geraden Elektrodenbändern gleicher Ablenkleistung. Es

zeigt sich, daß die erfindungsgemäßen Mikroelektroden 11a, 11b deutlich kürzer sind.

Die in Fig. 2 gezeigten schmalen Elektrodenbänder sind gegenüber Herstellungsfehlern und lokalen Unterbrechungen sehr empfindlich. Ein Haarriß am Ansatz einer bandförmigen Mikroelektrode führt zum Ausfall der gesamten Mikroelektrode. Dem kann mit einer Elektrodengestaltung abgeholfen werden, die schematisch in Fig. 3 gezeigt ist. Die zu Fig. 3 beschriebene Strukturierungs- und Abdecktechnik kann auch bei den anderen Ausführungsformen der Erfindung implementiert werden.

Fig. 3 zeigt eine Mikroelektrode 11 mit einer Steuerleitung 14. Die Elektrode 11 besteht aus einer elektrisch leitenden Schicht 15, die eine elektrisch nichtleitende Isolations- oder Deckschicht 16 trägt. Die Isolationsschicht 16 besitzt eine Strukturierung in Form von Ausnehmungen, durch die die Schicht 15 freiliegt. In Fig. 3 ist die Isolationschicht 16 schraffiert und die (z.B. metallische) Schicht 15 schwarz gezeichnet. Die Strukturierung der Isolationsschicht erfolgt entsprechend der gewünschten Form von Mikroelektroden, die im dargestellten Beispiel zur Bildung eines Partikeltrichters wie in Fig. 2 eingerichtet sind. Die elektrischen Feldlinien treten von der metallischen Schicht 15 in den Kanal nur in den Bereichen der Ausnehmungen, so daß wiederum Feldbarrieren mit anwendungsabhängig gekrümmten Bezugsflächen gebildet werden. Diese Gestaltung besitzt den Vorteil, daß eine geringfügige Unterbrechung der freiliegenden Abschnitte der metallischen Schicht 15 (d.h. der Mikroelektrode) keinen Ausfall bedeutet, da über die restliche metallische Schicht 15 auch die übrigen freiliegenden Bereiche der Mikroelektrode mit den jeweiligen Potentialen beaufschlagt werden. Die Schicht 15 besitzt beispielsweise eine Dicke von rd. 50 nm bis zu einigen μm , typischerweise rd. 200 nm. Die Dicke der Isolationsschicht beträgt rd. 100 nm bis zu einigen μm . Die Isolationsschicht besteht vorzugsweise aus

biokompatiblen Materialien (z.B. Oxide, SiO_2 , SiNO_3 und dergleichen, Polymere, Tantalverbindungen oder dergleichen).

Eine weitere Ausführungsform einer erfindungsgemäßen Elektrodenanordnung 10 entsprechend der obengenannten ersten Variante wird im folgenden unter Bezug auf die Fign. 4a bis 4c erläutert. Eine wichtige Anwendung fluidischer Mikrosysteme besteht in der Sortierung der suspendierten Teilchen in Abhängigkeit von deren passiven elektrischen Eigenschaften (im folgenden auch als Polarisations-eigenschaften bei negativer Dielektrophorese bezeichnet). Die Polarisations-eigenschaften hängen von den dielektrischen Eigenschaften der Teilchen und deren Ausmaßen ab. Die dielektrischen Eigenschaften biologischer Zellen sind ein empfindlicher Indikator bestimmter Zelleigenschaften oder -veränderungen, die an sich etwa durch eine Größenbeobachtung nicht erfaßbar wären.

Eine Teilchensortierung in Abhängigkeit von ihren passiven elektrischen Eigenschaften basiert auf dem folgenden Prinzip. Ob ein Teilchen die von einer Sortierelektrode ausgebildete Feldbarriere passieren kann, hängt davon ab, ob die resultierende Kraft aus der Antriebskraft F_s und der Polarisationskraft F_p (s. oben) die Feldbarriere schneidet oder nicht. Weist die resultierende Gesamtkraft F_R durch die Feldbarriere hindurch, so bewegt sich das Teilchen in diese Richtung, d.h. die Sortierelektrode wird passiert. Weist die resultierende Kraft F_R jedoch in einen in Bezug auf die Sortierelektrode stromaufwärts gelegenen Bereich, so wird sich das Teilchen in diese Richtung bewegen und nicht die Sortierelektrode passieren können. Die resultierende Kraft F_R hängt, wie oben erläutert wurde, von der Strömungsgeschwindigkeit des Kanals und somit von der x-Position des Teilchens ab. Hin zur Kanalmitte nimmt die Strömungsgeschwindigkeit zu. Damit werden Teilchen mit relativ großer Polarisierbarkeit, die am Kanalrand die Sortierelektrode nicht passieren konnten, hin zur Kanalmitte einer stärkeren

Antriebskraft F_s ausgesetzt, so daß dann gegebenenfalls ein Vorbeitritt an der Sortierelektrode möglich ist. Die Änderung der Strömungsgeschwindigkeit in x-Richtung folgt dem Strömungsprofil und ist in der Regel nicht-linear. Dadurch würde sich bei Einsatz einer geraden Sortierelektrode ein nicht-lineares Trennverhalten ergeben. Dies wird durch die Implementierung erfindungsgemäß gekrümmter Feldbarrieren kompensiert. Hierzu werden Mikroelektroden 41a, 41b mit einer Krümmung in Abhängigkeit vom Strömungsprofil nach den unter Bezug auf Fig. 2 erläuterten Prinzipien eingesetzt.

Fig. 4a zeigt zwei Beispiele gekrümmter Mikroelektroden 41a, 41b auf der Bodenfläche 21a eines Kanals zwischen seitlichen Spacern 23. Der Kanal wird in y-Richtung von links nach rechts durchströmt, wobei die Pfeile v das Geschwindigkeits-Strömungsprofil im Kanal darstellen. Stromaufwärts vor der eigentlichen Sortierelektrode 41a oder 41b befindet sich eine geradlinige Mikroelektrode 47, deren Aufgabe darin besteht, die von links anströmenden Teilchen 30 auf eine Startlinie s zu fokussieren. Die Mikroelektrode 47 kann auch als Fokussierelektrode bezeichnet werden. Sie ist (wie dargestellt) als gerade, herkömmliche Ablenkelektrode oder auch gekrümmt ausgeführt. Stromabwärts von der Fokussierelektrode 47 ist eine der Sortierelektroden 41a oder 41b angeordnet, deren Aufgabe darin besteht, die anströmenden Teilchen 30 in Abhängigkeit von ihren Polarisierungseigenschaften in bezüglich der x-Richtung verschiedene Bahnen im Kanal zu überführen. Die Teilchen mit einer hohen Polarisierbarkeit 30a sollen sich von den Teilchen mit einer geringen Polarisierbarkeit 30b in y-Richtung auf verschiedenen Bahnen weiter bewegen.

Die Sortierelektrode 41a ist für eine lineare Kraftwirkung eingerichtet. Hierzu ist die Krümmung der Mikroelektrode entsprechend dem Strömungsprofil ausgebildet. Bei geringen Strömungsgeschwindigkeiten ist ein starker Anstellwinkel zwischen

der Mikroelektrode und der y-Richtung und bei größeren Strömungsgeschwindigkeiten ein geringerer Anstellwinkel ausgebildet. Die Mikroelektrode 41a besitzt somit eine S-Form mit einem Wendepunkt in Kanalmitte. Nach Passage der Sortierelektrode 41a besteht ein linearer Zusammenhang zwischen der x-Koordinate des Teilchens und seiner Polarisierbarkeit. Ist eine nichtlineare Sortierwirkung beabsichtigt, so kann die Mikroelektrode wie die Sortierelektrode 11b gekrümmt sein. Die Krümmung ist schwächer als im Falle der Sortierelektrode 11a, so daß der Einfluß der Antriebskraft F_s durch die Strömungsgeschwindigkeit nicht kompensiert wird. Je nach den eingestellten Verhältnissen ergibt sich ein nichtlinearer Zusammenhang zwischen der x-Position der Teilchen und ihrer Polarisierbarkeit nach Passage der Sortierelektrode 11b. Diese Gestaltung kann insbesondere zur Trennung von zwei Teilchenarten mit verschiedenen Polarisierbarkeiten verwendet werden.

Experimentelle Ergebnisse haben gezeigt, daß sich mit einer Sortieranordnung gemäß Fig. 4a Erythrozyten sauber von sogenannten Jurkart-Zellen trennen ließen, ob beide Zellen die gleiche Größe aufweisen.

Falls das Strömungsprofil im Kanal nicht die in Fig. 4a dargestellte ausgeprägt parabolische Gestalt, sondern eine Plateauform besitzt, so werden Sortierelektroden 41c, 41d gemäß Fig. 4b vorgesehen. Die Strömungsgeschwindigkeit steigt vom Kanalrand her zunächst an und bleibt dann in einem mittleren Bereich des Kanals im wesentlichen konstant. Zur Erzielung einer linearen Sortierwirkung besitzt die Sortierelektrode 41a im mittleren Bereich eine gerade Bandform und an den Enden Krümmungen zur Berücksichtigung der sich ändernden Antriebskraft F_s . Für eine nichtlineare Sortierwirkung ist die Sortierelektrode 41d gekrümmt. Vom Ansatz der Sortierelektrode 41d am Steueranschluß 14 hin zu deren Ende ergibt sich eine zunehmende Wirkung der Feldbarriere.

Die Gestalt der Sortierelektroden kann auch an kompliziertere Strömungsprofile angepaßt werden, wie dies in Fig. 4c gezeigt ist. Im Mikrosystem 20 münden ein erster Kanal 211 mit einer hohen Strömungsgeschwindigkeit und ein zweiter Kanal 212 mit einer geringeren Strömungsgeschwindigkeit in einen gemeinsamen Kanal 21. Aufgrund der Laminarität der Strömung bleibt das Strömungsprofil auch im gemeinsamen Strömungsverlauf zunächst erhalten. Entsprechend sind die Sortierelektroden 41e bzw. 41f zur Erzielung einer bestimmten linearen oder nichtlinearen Sortierwirkung gekrümmt ausgebildet. Je geringer die Strömungsgeschwindigkeit, desto größer ist der Anstellwinkel zwischen der Richtung der Mikroelektrode (Ausrichtung der Bezugsfläche) und der Kanallängsrichtung (y-Richtung).

In den Fig. 4b und 4c ist aus Übersichtlichkeitsgründen die Fokussierelektrode 17 gemäß Fig. 4a nicht dargestellt.

Die oben erläuterte Sortierung erfolgt unter der Annahme eines über die gesamte Mikroelektrodenlänge konstanten Potentials. In der Realität treten jedoch geringfügige elektrische Verluste entlang der Mikroelektrode auf, so daß die Feldbarriere vom Ansatz der Mikroelektrode (bei der Steuerleitung) hin zu ihrem Ende immer kleiner wird. Diese Erscheinung kann bei der Krümmung der Sortierelektroden berücksichtigt werden, indem auf der Steuerleitungsseite des Kanals eine größere Elektrodenkrümmung vorgesehen ist als am Ende der Sortierelektroden. Die genannte Erscheinung kann jedoch auch bewußt für zusätzliche, nicht-lineare Trennwirkungen ausgenutzt werden. Der Potentialabfall hin zum Ende der Mikroelektroden kann bei abgewandelten Ausführungsformen speziell durch Maßnahmen zur Ausbildung von Feldgradienten verstärkt werden. Dies bedeutet, daß die Höhe der durch die Mikroelektrode gebildeten Feldbarriere im Verlauf des gekrümmten Elektrodenbandes zu- oder ab-

nimmt. Derartige Gradientenelektroden können mit einer Gestalt gemäß Fig. 5 aufgebaut sein.

Zur Teilchensortierung in Bezug auf verschiedene Merkmalsgruppen können mehrere Sortierelektroden gemäß Fig. 4 in Kanalrichtung aufeinanderfolgend angeordnet werden. Jede Sortierelektrode ist mit einem charakteristischen Potential oder Potentialverlauf bei einer vorbestimmten Frequenz beaufschlagt. So können beispielsweise relativ niedrige Frequenzen (im Bereich von rd. 10 kHz) zur Sortierung in Bezug auf verschiedene dielektrische Membraneigenschaften und hohe Frequenzen (oberhalb 100 kHz) zur Sortierung in Abhängigkeit von der zytoplasmatischen Leitfähigkeit von biologischen Zellen verwendet werden.

Fig. 5 zeigt Gradientenelektroden 51a, 51b aus Übersichtlichkeitsgründen mit geraden Elektrodenbändern. Zur Einstellung erfindungsgemäß ausgebildeter Feldbarrieren mit gekrümmten Bezugsflächen besitzen die dargestellten Gradientenelektroden zusätzlich noch eine charakteristische, anwendungsabhängige Krümmung entsprechend den oben erläuterten Prinzipien.

Die Gradientenelektrode 51a wird durch ein geschlossenes, um eine dreieckige Fläche geführtes Elektrodenband gebildet. Mit zunehmendem Abstand von der Steuerleitung 14 wird die Feldliniendichte entsprechend der Auffächerung des Dreiecks gering. Entsprechendes gilt für die Gradientenelektrode 51b mit zwei divergierenden Teilbändern 511b und 512b.

Eine weitere wichtige Anwendung fluidischer Mikrosysteme besteht im Sammeln und zumindest zeitweisen Anordnen von Teilchen oder Teilchengruppen im suspensionsflüssigkeitsdurchströmten Kanal. Hierzu werden erfindungsgemäße Elektrodenanordnungen als Fangelektroden gestaltet, wie dies im folgenden unter Bezug auf die Fign. 6 bis 8 erläutert wird.

Fig. 6a zeigt die Grundform einer Fangelektrode. Wiederum ist lediglich eine Mikroelektrode auf der Boden- oder Deckfläche eines Kanals gezeigt, die mit einer zweiten Mikroelektrode auf der gegenüberliegenden Kanalseite zusammenwirkt. Eine Fangelektrode 61a besteht aus einem Elektrodenband mit einem Winkelabschnitt 611a und einem Zuführungsabschnitt 612a. Der Winkelabschnitt 611a bildet einen in Strömungsrichtung (x-Richtung) weisenden Winkel. Der Öffnungswinkel des Winkelabschnittes 611a wird in Abhängigkeit von der Gestalt der einzufangenden Teilchen gewählt und ist vorzugsweise kleiner als 90° , z.B. im Bereich von 20 bis 60° . Die gegenüberliegenden Winkelabschnitte zusammenwirkender Elektroden bilden eine für die einzufangenden Teilchen 30 auch unter Wirkung der Antriebskraft durch die Strömung nicht passierbare Barriere. Diese Barriere bleibt für die Dauer der Ansteuerung der Fangelektroden erhalten. Der Zuführabschnitt 612a ist durch eine Isolationsschicht 16 elektrisch unwirksam. Fig. 6b zeigt eine abgewandelte Form einer Fangelektrode 61b, die entsprechend der oben unter Bezug auf Fig. 3 erläuterten Abdecktechnik hergestellt ist. Der elektrisch wirksame Winkelabschnitt 611b wird durch eine Ausnehmung in der Isolationsschicht 16 gebildet, durch die eine tieferliegende metallische Schicht 15 hin zur Suspensionsflüssigkeit mit den Teilchen offen liegt.

Die Fign. 6c und 6d zeigen entsprechende Fangelektroden 61c und 61d jeweils mit einer Vielzahl von Winkelabschnitten 611c bzw. 611d. Diese Winkelabschnitte sind wiederum zum Auffangen anströmender Partikel 30 eingerichtet. Durch die Aneinanderreihung der Winkelabschnitte 611c bzw. 611d quer zur Kanallängsrichtung (x-Richtung) können die in den verschiedenen Kanalbereichen anströmenden Teilchen selektiv aufgefangen werden. Eine Fangelektrode 61c bzw. 61d wird vorteilhafterweise mit einer der Sortierelektroden gemäß den Fign. 4a bis 4c kombiniert. Die sortierten Teilchen werden separat in den einzel-

nen Fangbereichen der Fangelektroden aufgefangen. Die Fangelektrode 61d entspricht im wesentlichen der Fangelektrode 61c, wobei die genannte Abdecktechnik implementiert wurde.

Die Fangelektroden 61c bzw. 61d sind besonders gut geeignet eine Aufreihung von Teilchen in der Suspensionsströmung nach Art einer Startlinie zu bilden, von der die Teilchen bei Abschalten der Steuerpotentiale der Fangelektroden simultan fortströmen.

Fig. 6e zeigt eine weitere Ausführungsform einer Fangelektrode 61e, bei der auch eine Vielzahl von Winkelabschnitten 611e vorgesehen sind, die jedoch für die Sammlung bzw. das Auffangen verschieden großer Teilchen oder verschieden großer Ansammlungen aus diesen eingerichtet sind.

Die Ansammlung einer Teilchengruppe 300 mit einer Fangelektrode 71a ist in Fig. 7a illustriert. Diese Ausführungsform einer Fangelektrode unterscheidet sich von der Fangelektrode gemäß Fig. 6a lediglich durch die Ausmaße. Diese Gestaltung eignet sich besonders gut zur Bildung von Teilchenaggregaten. Wiederum wird eine Kombination mit einer Sortieranordnung gemäß den Fig. 4a bis 4c bevorzugt realisiert.

Die Elektrodenanordnung gemäß Fig. 7b ist zum separaten Auffangen von Teilchen oder Teilchengruppen aus der Suspensionsströmung im Kanal eingerichtet, die sich in Bezug auf ihre Strömungsbahn in x-Richtung unterscheiden. Die Mikroelektrodenanordnung 71b umfaßt mehrere Teil-Fangelektroden jeweils mit einem Winkelabschnitt 711b, die separat ansteuerbar sind. Bei Kombination einer derartigen Fangelektrodenanordnung mit einer Sortieranordnung gemäß den Fig. 4a bis 4c kann mit besonderem Vorteil die folgende Verfahrensweise realisiert werden.

Zunächst wird ein Teilchengemisch, das durch den Kanal im Mikrosystem strömt, in Abhängigkeit von den passiven elektrischen Eigenschaften der Teilchen sortiert und somit auf verschiedene, in x-Richtung voneinander beabstandete Bahnen gelenkt. Dann erfolgt die teilchenartspezifische Sammlung der in den einzelnen Bahnen anströmenden Teilchen mit einer Fangelektrode gemäß Fig. 7b. Durch eine zeitlich aufeinanderfolgende Freigabe der Teil-Fangelektroden (jeweils durch Abschalten der Steuerpotentiale) können die vorher sortierten Teilchen gruppenweise im Mikrosystem weitergeströmt werden. Im weiteren Kanalverlauf kann beispielsweise eine Aufspaltung in mehrere Teilkanäle erfolgen, in die die Gruppen der Teilchenarten spezifisch gelenkt werden.

Fig. 7c zeigt eine weitere Fangelektrode 71c zur Erzeugung einer vorbestimmten Partikelformation.

Die Winkelabschnitte der in den Fign. 6 und 7 gezeigten Fangelektroden können sich anwendungsabhängig über die gesamte Kanalbreite oder nur über Teile des Kanals erstrecken. Innerhalb einer Elektrodenanordnung können Fangelektroden für einzelne Teilchen und/oder für Teilchengruppen vorgesehen sein.

Weitere Ausführungsformen kombinierter Sortier- und Fangelektroden sind in der Draufsicht auf die Bodenfläche 21a eines durch die Spacer 23 begrenzten Kanals gemäß Fig. 8 illustriert. Der Kanal wird in y-Richtung von der Suspensionsflüssigkeit mit suspendierten Teilchen durchströmt. Gemäß Fig. 8a wirkt eine flächige Mikroelektrode 81a auf der Bodenfläche 21a mit einer geraden, bandförmigen Mikroelektrode 82a (gestrichelt eingezeichnet) auf der entgegengesetzten Deckfläche des Kanals zusammen. Die flächige Mikroelektrode 81a ist durch die oben erläuterte Abdecktechnik hergestellt. Eine metallische Schicht trägt eine Isolationsschicht 86 mit einer Ausnehmung entsprechend der Gestalt der Mikroelektrode 81a (schwarz ge-

zeichnet). Die Feldlinien zwischen den Mikroelektroden 81a und 82a verlaufen quer zur Strömungsrichtung in inhomogener Weise, so daß sich eine asymmetrische Feldbarriere bzw. wiederum eine erfindungsgemäß gekrümmte Bezugsfläche ergibt. In Kanalmitte ist die Feldliniendichte am größten, so daß auch die elektrisch erzeugten Kräfte im Bereich der höchsten Strömungsgeschwindigkeit liegen. Dadurch wird in x-Richtung quer über die Kanalbreite ein im wesentlichen konstantes Gleichgewicht zwischen der Antriebskraft durch die Strömung und der elektrischen Polarisationskraft ausgebildet. Gemäß Fig. 8b wird wiederum eine Feldbarriere mit gekrümmter Bezugsfläche gebildet. Die Mikroelektroden 81b, 82b sind beide linear oder bandförmig ausgeführt und nicht gegenüberliegend, sondern versetzt zueinander angeordnet.

Eine Elektrodenanordnung zur Bildung von Teilchenaggregaten ist in Fig. 8c gezeigt. Die Mikroelektroden 81c, 82c bilden eine Reihe nebeneinander angeordneter, trichterförmiger Partikelfänger. Jeder Partikelfänger 11 wird durch eine Feldbarriere gebildet, die sich in Strömungsrichtung zunächst trichterförmig verengt und dann in einen geraden Kanalabschnitt 812 mündet. Der Kanalabschnitt ist so bemessen, daß zwei Teilchen in Strömungsrichtung hintereinander angeordnet werden können. Durch Ausbildung von Adhäsionskräften bilden die Partikel ein Aggregat (sogenannte Pärchenbeladung in Strömungsrichtung). Die Ausführungsform gemäß Fig. 8d ist dahingehend abgewandelt, daß eine Pärchenbeladung quer zur Strömungsrichtung erfolgt. Dabei sind die einzelnen Fängerelemente 811d mit eingangsseitigen Elektroden spitzen 813d ausgebildet, mit denen eine zusätzliche Barrierewirkung oder Filterwirkung erzielt wird und bereits vorhandene Aggregate oder größere Teilchen 30d von einer Anordnung in der Fangelektrode 81d ausgeschlossen werden.

Eine weitere Ausführungsform einer erfindungsgemäßen Elektrodenanordnung gemäß der obengenannten zweiten Variante ist in Fig. 9 dargestellt. Im Mikrosystem 20 ist zwischen den Spacern 23 ein Kanal 21 gebildet, der durch eine Trennwand 231 in Teilkanäle 211 und 212 unterteilt ist. Die Trennwand 231 besitzt eine Öffnung 232, in deren Bereich an den Seitenflächen des Kanals 21 die Mikroelektroden 91 und 92 angebracht sind.

Die Mikroelektroden 91 und 92 sind sogenannte dreidimensionale oder hohe Elektroden, die an den Seitenflächen aus den Ebenen der Boden- und Deckflächen des Kanals 21 herausragen. Die Herstellung der Mikroelektroden 91 und 92 erfolgt mit an sich bekannten Techniken der Halbleiterprozessierung (z.B. mit dem LIGA-Verfahren). Die Mikroelektrode 91 ist flächig ausgeführt. Die Feldlinien reichen zur gegenüberliegenden, bandförmig ausgeführten Mikroelektrode 92 und bilden damit einen gekrümmten Fangbereich mit der in Fig. 1c illustrierten Bezugsfläche.

Werden die Mikroelektroden 91, 92 mit elektrischen Hochfrequenzpotentialen angesteuert, so werden die Partikel 30 mit negativer Dielektrophorese durch die Öffnung 232 in den benachbarten Teilkanal gedrückt. Diese Teilchenablenkung kann wiederum selektiv in Abhängigkeit von den passiven elektrischen Eigenschaften der suspendierten Teilchen erfolgen. Teilchen mit geringer Polarisierbarkeit bleiben im Ausgangskanal, während Teilchen mit hoher Polarisierbarkeit in den Nachbarkanal abgelenkt werden.

Bei der Gestaltung gemäß Fig. 9 ist es nicht zwingend erforderlich, daß die Mikroelektrode 91 beschaltet ist. Sie kann erdfrei geschaltet sein (floating) oder auch ganz weggelassen werden. Im letzteren Fall wirkt die Mikroelektrode 92 als Antenne. Die Mikroelektroden 91, 92 erstrecken sich vorzugsweise über die gesamte Höhe der Seitenflächen des Kanals.

Ein Ausführungsbeispiel einer Elektrodenanordnung entsprechend der obengenannten dritten Variante ist in Fig. 10 (entsprechend Fig. 1d) illustriert. In einem Mikrosystem verlaufen wiederum zwei Teilkanäle 211, 212 parallel zueinander und durch eine Trennwand 231 mit einer Öffnung 232 voneinander getrennt. Die erfindungsgemäße Elektrodenanordnung besteht aus den Mikroelektroden auf den Boden- und Deckflächen in Form von Fokussierungselektroden 101, 102 und der Hilfselektrode 103. Die Hilfselektrode ist an der Trennwand 231 an die Öffnung 232 angrenzend an der stromabwärts gelegenen Seite der Öffnung 232 angeordnet. Die Hilfselektrode 103 verfügt nicht über eine Steuerleitung. Sie dient lediglich der Formung der Bezugsfläche der durch die Elektrodenanordnung gebildeten Feldbarrieren. Die Mikroelektroden wirken wie folgt zusammen.

Die Fokussierelektroden 101 und 102 dienen jeweils der Fokussierung der in den Teilkanälen 211 bzw. 212 anströmenden Teilchen 30a, 30b auf eine Mittellinie entsprechend der Position der Öffnung 232 in der Trennwand 231. Analog zum unter Bezug auf Fig. 9 erläuterten Ablenkprinzip werden die Teilchen durch die Feldbarriere zwischen der Fokussierelektrode 101 und der Hilfselektrode 103 bzw. zwischen der Fokussierelektrode 102 und der Hilfselektrode 103 durch die Öffnung 232 in den benachbarten Teilkanal abgelenkt oder im gegebenen Teilkanal belassen. Gemäß einer bevorzugten Verfahrensweise werden die Fokussierelektroden 101, 102 mit verschiedenen Frequenzen betrieben, um teilchenselektiv zu wirken. Dementsprechend ist wiederum eine selektive Teilchensortierung in die Teilkanäle oder eine Ablenkung vorbestimmter Teilchen in einen benachbarten Teilkanal zur Durchführung einer bestimmten Wirkstoffbehandlung mit der dort gegebenen Suspensionsflüssigkeit erzielbar.

Eine weitere dreidimensionale Elektrodenanordnung ist in Fig. 11 dargestellt. Ein Kanal 21 wird in y-Richtung mit einer Sus-

pensionsflüssigkeit durchströmt. Auf der Bodenfläche 21a ist eine Gruppe von Mikroelektroden 111 angeordnet, die in den Kanal 21 hineinragen und voneinander beabstandet in Strömungsrichtung (y-Richtung) ausgerichtet sind. Jede Mikroelektrode 111 besitzt die Form eines Quaders. Die Mikroelektroden 111 bestehen aus Metall oder besitzen eine metallische Oberflächenbeschichtung, ohne selbst mit einer Steuerleitung versehen zu sein.

Auf der gegenüberliegenden Kanalwand (Deckfläche, nicht dargestellt) ist eine flächige Elektrodenanordnung 112 (Ablenkelektrode) vorgesehen, die mit den Mikroelektroden 111 wie folgt zusammenwirkt. Die in y-Richtung strömenden Teilchen 30a werden den Feldbarrieren ausgesetzt, die durch die feldformenden Mikroelektroden 111 asymmetrisch und durch gekrümmte Bezugsflächen gekennzeichnet sind. Wiederum erfolgt eine Ablenkung der Teilchen in Abhängigkeit von den passiven elektrischen Eigenschaften. Schwach polarisierbare Teilchen 31a strömen weiter in y-Richtung, während stärker polarisierbare Teilchen 30b in die Abstände zwischen den feldformenden Elektroden 111 abgelenkt werden. Die abgelenkten Teilchen 30b werden dementsprechend aufgefangen oder aufgesammelt und nicht mehr mit der Strömung in y-Richtung weiter transportiert.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform ist die Elektrodenanordnung gemäß Fig. 11 an einer Kreuzung von zwei Kanälen vorgesehen. Der Kanal 21 in y-Richtung wird von einem (nicht dargestellten) Kanal gekreuzt, durch den eine Suspensionsflüssigkeit in x-Richtung (Pfeile A) strömt. Diese laterale Zusatzströmung transportiert die abgelenkten Teilchen 30b kontinuierlich aus den Zwischenräumen zwischen den feldformenden Elektroden 111 in den Querkanal.

Die Geometrie der feldformenden Mikroelektroden 111 kann an die Strömungsverhältnisse und den Feldverlauf in den Elektro-

denzwischenräumen und die Gestalt der gegenüberliegenden Elektrodenanordnung 112 angepaßt sein.

Die Ausführungsform gemäß Fig. 11 kann durch Bereitstellung einer volumenförmigen feldformenden Elektrode 121 anstelle der feldformenden Elektroden 111 gemäß Fig. 12 modifiziert werden. Die volumenförmige Mikroelektrode wird auch als Sammelelektrode 121 bezeichnet. Die Sammelelektrode 121 befindet sich beispielsweise auf der Bodenfläche eines Kanals (nicht dargestellt) und besteht aus einem quaderförmigen Block aus metallischem oder metallisch beschichtetem Material mit einer Vielzahl von spalten- und reihenweise angeordneten Bohrungen oder Reservoirs 121a. Die Sammelelektrode ist auf der Vorderseite geschnitten dargestellt, so daß die Reservoirs 121a erkennbar sind. Die Sammelelektrode 121 wirkt wie folgt mit der flächigen Elektrodenanordnung 122 (Ablenkelektrode) auf der gegenüberliegenden Kanalwand zusammen. Zwischen den Mikroelektroden 122, 121 wird eine asymmetrische Feldbarriere erzeugt, die dazu eingerichtet ist, selektiv Teilchen in die Reservoirs 121a abzulenken. Die Teilchen 30 strömen y-Richtung durch den Kanal. Teilchen, die durch die Feldwirkung nach unten in die Sammelelektrode 121 abgelenkt werden, gelangen in die Reservoirs 121a und werden dort fixiert. Nachdem sämtliche Reservoirs 121a gefüllt sind, kann die Ansteuerung der Elektrodenanordnung derart erfolgen, daß die Teilchen simultan aus den Reservoirs 121a in die Strömung überführt und in dieser als Teilchen- oder Aggregatformation weiter transportiert werden. Hierzu kann gegebenenfalls unterhalb der Sammelelektrode 121 eine weitere flächige Elektrodenanordnung (nicht dargestellt) vorgesehen sein, die im wesentlichen wie die flächige Elektrodenanordnung 122 ausgebildet ist.

Gemäß einem besonderen Gesichtspunkt der Erfindung können die Mikroelektroden bei den einzelnen Gestaltungsformen an sich segmentiert sein. In diesem Fall besteht jede Mikroelektrode

aus einer Reihe von Elektrodensegmenten, die entsprechend der gewünschten Elektrodenfunktion angeordnet sind. Eine besonders vielseitig einsetzbare Mikroelektrode 131 ist in Fig. 13 als Array einer Vielzahl von matrixartig angeordneten, pixelförmigen Elektrodensegmenten dargestellt. Die Elektrodensegmente sind über der gesamten Breite der Bodenfläche 21a zwischen den Spacern 23 angeordnet und einzeln ansteuerbar. Dies ermöglicht die Ausbildung der gewünschten gekrümmten Feldbarrieren, insbesondere entsprechend der obengenannten ersten Variante, in Abhängigkeit von der konkreten Anwendung, insbesondere in Abhängigkeit von den jeweils zu manipulierenden Teilchen, den Strömungsverhältnissen und der Aufgabe des Mikrosystems. In Fig. 13 sind die momentan angesteuerten Pixel schwarz und die nicht-angesteuerten Pixel weiß gezeichnet. In diesem Fall übernimmt die segmentierte Mikroelektrode 131 die Funktion eines Partikeltrichters gemäß Fig. 2, mit dem die Teilchen 30 in die Kanalmitte fokussiert werden.

Die pixelförmigen Elektrodensegmente ermöglichen eine verlustminimierende Fokussierung, Sortierung oder Sammlung von Teilchen. Jedes Elektrodensegment kann mit einem eigenen Potentialwert (Spannung) bzw. einer eigenen Frequenz angesteuert werden. Damit läßt sich ein beliebig vorzugebendes dielektrisches Kraftfeld entlang des Kanales ausbilden. So z.B. läßt sich der Einfluß des Strömungsprofiles dadurch kompensieren, daß die quer zur Kanallängsrichtung angeordneten Pixel mit einer Spannung entsprechend der Quadratwurzel des Profils der Strömungsgeschwindigkeit angesteuert werden.

Die Größe der Elektrodensegmente und Abstände zwischen den Elektrodensegmenten sind vorzugsweise kleiner als charakteristische Dimensionen der zu manipulierenden Teilchen, können aber auch größer sein.

Sämtliche Teilchenmanipulierungen erfolgen berührungsfrei, so daß sich erfindungsgemäße Mikrosysteme besonders für die Manipulierung biologischer Zellen oder Zellbestandteile eignen.

Die Figuren 14 bis 16 zeigen eine schematische Perspektivansicht eines erfindungsgemäßen Aufbaus einer Zentrifuge mit einem Mikrosystem, eine schematische Draufsicht auf ein erfindungsgemäßes Mikrosystem, das zur Teilchentrennung eingerichtet ist, und eine schematische Draufsicht auf ein programmierbares Beladungsmikrosystem gemäß einer weiteren Ausführungsform der Erfindung.

Die hier beschriebenen Ausführungsformen der Erfindung beziehen sich auf die Kombination eines Mikrosystems, das mit einer Mikroelektrodeneinrichtung zur Ausübung negativer oder positiver Dielektrophorese ausgestattet ist (dielektrophoretisches Mikrosystem), mit einer Schwingrotorzentrifugeneinrichtung. Sowohl das dielektrophoretische Mikrosystem (abgesehen von der mindestens einseitigen Verschließbarkeit von Kanalstrukturen) als auch die Schwingrotorzentrifugeneinrichtung sind jeweils an sich bekannt, so daß auf deren technische Einzelheiten hier nicht weiter eingegangen wird. Es wird betont, daß der Begriff der Schwingrotorzentrifugeneinrichtung hier auch im weitesten Sinne dahingehend zu verstehen ist, daß jede Zentrifugeneinrichtung mit mindestens einem drehzahlabhängig aufrichtbaren Rotor eingeschlossen ist, der selbst das Mikrosystem und die zugehörige Steuerung bildet, in den das Mikrosystem und die zugehörige Steuerung integriert oder auf den das Mikrosystem und die zugehörige Steuerung aufgesetzt sind.

Die erfindungsgemäß manipulierten Partikel können synthetische Teilchen oder biologische Objekte umfassen. Die synthetischen Teilchen sind beispielsweise membranumhüllte Gebilde, wie Liposomen oder Vesikeln, oder sogenannte Beads oder auch

Makromoleküle. Die biologischen Objekte umfassen beispielsweise biologische Zellen oder Bestandteile von diesen (z.B. Zellorganellen), Bakterien oder Viren. Die Partikel können auch Aggregate oder Zusammenballungen derartiger Teilchen und/oder Objekte sein. Die Erfindung wird vorzugsweise mit zellphysiologisch oder medizinisch relevanten Fluiden mit Leitfähigkeiten unterhalb 5 Siemens/m implementiert.

Fig. 14 ist eine schematische Übersichtsdarstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Illustration der Anbringung eines dielektrophoretischen Systems an einer Zentrifugeneinrichtung.

An einem üblichen oder anwendungsabhängig modifizierten Rotor einer Zentrifuge mit der Drehachse 11 befinden sich vier Aufnahmen 12, in die jeweils paßgerecht und für die applizierten Drehzahlen entsprechend ein Mikrosystem 15 und eine Steuerelektronik 13 zur Ansteuerung des Mikrosystems mit hochfrequenten Wechsignalen verschiedener Phasenlage und Amplitude eingesetzt sind. Die Steuerelektronik ist über Kabel 14, Stecker oder anderweitig mit dem Mikrosystem 15 verbunden. Die Energieversorgung der Steuereinrichtung erfolgt vorzugsweise über eine elektrische Verbindung, (umlaufender Kontakt) mit dem festen Laborsystem. Das Mikrosystem hat ein Eingangsdepot 16, das anwendungsabhängig verschieden groß ausgelegt sein kann und vor der Zentrifugation mit einer Teilchen- oder Zellsuspension gefüllt wird. Vom Eingangsdepot 16 aus verläuft eine Kanalstruktur, deren Einzelheiten weiter unten erläutert werden, bis zu Auffangzonen 17a, 17b, die ein zumindest während des Zentrifugierens geschlossenes Ende des Mikrosystems 15 bilden. Dies bedeutet, daß das Ende des Mikrosystems entweder dauerhaft abgeschlossen oder bei Stillstand der Vorrichtung durch entsprechende Verbindungselemente geöffnet und an vorbestimmte Zusatzsysteme zur Probenübertragung angeschlossen werden kann. Das Mikrosystem 15 ist so auf der Aufnahme 12 angeordnet, daß bei

Betrieb der Zentrifugeneinrichtung (Drehung des Rotors um die Drehachse 11 mit der Drehfrequenz ω) die auf das Mikrosystem 15 und in diesem befindliche Partikel wirkenden Zentrifugalkräfte in der Bezugsrichtung vom Eingangsdepot 18 hin zu den Auffangzonen 17a, 17b gerichtet sind. Die Aufnahmen 12 sind verschwenkbar am Rotor (nicht dargestellt) angebracht. Beim Stillstand der Zentrifuge sind die Aufnahme 12 im wesentlichen vertikal oder mit einem geringen Winkel gegenüber der Drehachse ausgerichtet. Beim Zentrifugenbetrieb richten sich die Aufnahmen 12 drehzahlabhängig in einen größeren Winkel bis hin in die horizontale Ausrichtung senkrecht zur Drehachse 11 auf. Unter der Wirkung der Gravitationskraft (bei Stillstand der Zentrifuge) bzw. der Zentrifugalkräfte durchlaufen die Teilchen das elektronisch gesteuerte Mikrokanalsystem und sammeln sich in den Auffangzonen (z.B. am geschlossenen Ende des von der Rotorachse wegweisenden Teils des Mikrosystems).

Bei diesem Durchlauf werden die Partikel nach vorbestimmten Programmen (s. unten) behandelt. Da die Teilchen in Abhängigkeit von ihrer Dichte verschiedene Bewegungen ausführen und Endpositionen einnehmen, wird in der vorliegenden Erfindung der Vorteil der Zentrifugaltrennung und -bewegung mit den Möglichkeiten der programmierbaren Dielektrophorese kombiniert. In der Regel wird negative Dielektrophorese, in Ausnahmefällen auch positive Dielektrophorese der Teilchen genutzt. Ein weiterer Vorteil der Erfindung ist die Steuerung der Teilchenbewegung über die Rotationsgeschwindigkeit (ω) des Rotors 11. Da hierbei ebenfalls programmierbare Variationen durchlaufen werden können, ist ein zweiter Komplex von festlegbaren Parametern bei der Partikelmanipulation gegeben.

Die Zentrifugeneinrichtung ist mit einer (nicht dargestellten) Drehzahlsteuerung versehen, die für eine reproduzierbare und genaue Drehzahleinstellung insbesondere in niedrigen Drehzahlbereichen eingerichtet ist. Die Drehzahl wird anwendungsabhän-

gig je nach der gewünschten Geschwindigkeit der zu manipulierenden Teilchen und in Abhängigkeit vom konkreten Zentrifugenaufbau gewählt. Die interessierenden Partikelgeschwindigkeiten liegen für biologische Partikel (z.B. Zellen) unterhalb von rd. 500 $\mu\text{m/s}$ (vorzugsweise im Bereich von 50 bis 100 $\mu\text{m/s}$) und für synthetische Partikel (z.B. Latex-Beads) bei höheren Geschwindigkeiten (z.B. einige mm/s). Die Drehzahl der Zentrifugeneinrichtung wird entsprechend den Zusammenhängen von Drehzahl und Zentrifugalkraft in Abhängigkeit von der Größe bzw. Massendichte der Partikel gewählt. Die folgenden Angaben beziehen sich auf einen Abstand des Mikrosystems von der Rotorachse im Bereich von 1 bis 10 cm. Für Partikeldurchmesser im Bereich von 50 bis 600 nm (z.B. Viren) können die Drehzahlen beispielsweise im Bereich von 1 bis 1000 U/min liegen. Bei Partikeln mit einem Durchmesser von rd. 5 μm werden Drehzahlen bis zu 100 U/min bevorzugt, wobei jedoch auch höhere Drehzahlen einstellbar sind. Bei besonders kleinen Partikeln, z.B. Makromoleküle sind auch noch höhere Drehzahlen realisierbar. Für biologische Zellen ergeben sich bei einem Abstand des Mikrosystems von rd. 5 bis 10 cm von der Drehachse 11 Drehzahlen im Bereich von wenigen Umdrehungen pro Minute bis zu einigen 100 (z. B. 600) Umdrehungen pro Minute, vorzugsweise unterhalb 100 U/min. Die erzielbaren Zentrifugalkräfte liegen im Bereich von pN bis nN. Die Zentrifugeneinrichtung ist jedoch auch für größere Drehzahlen ausgelegt, die insbesondere für kleine Partikel oder für Reinigungs- oder Spülzwecke eingestellt werden können. Diese erhöhten Drehzahlen können bis zum Bereich der Drehzahlen herkömmlicher Laborzentrifugen reichen.

Die Drehzahl der Zentrifuge wird auch in Abhängigkeit von den dielektrophoretischen Kräften ausgewählt, die auf die Partikel im Mikrosystem wirken. Die dielektrophoretischen Kräfte sind als Polarisationskräfte von der Teilchenart und -größe abhängig. Die Drehzahl wird vorzugsweise so ausgewählt, daß die Zentrifugalkräfte auf die Partikel kleiner oder gleich den dielek-

trophoretischen Kräften sind. Falls diese nicht bekannt sind, kann die Drehzahl auch in Bezug auf das folgende Kriterium ausgewählt werden. Die Teilchen müssen sich so langsam durch die Kanalstruktur bewegen, daß beim Vorbeitritt an den Mikroelektrodeneinrichtungen genügend Zeit zur dielektrophoretischen Ablenkung bleibt. Die Wirksamkeit oder Unwirksamkeit der dielektrophoretischen Ablenkung in Abhängigkeit von der Drehzahl kann mit geeigneten Sensoren optisch oder elektrisch erfaßt werden.

Fig. 15 zeigt in schematischer Weise ein Mikrosystem zur Auftrennung eines Partikelgemisches, bestehend aus größeren Teilchen 21 (z.B. Zellen) und kleinen Teilchen 22, die in einer Suspension vorliegen. Die Zentrifugalkräfte wirken in Pfeilrichtung 23 (Bezugsrichtung). Die typischen Abmessungen der Kanalstruktur 24 sind die folgenden:

| | |
|---------|--|
| Breite: | einige 10 μm bis zu einigen mm (typischerweise: 200 - 400 μm) |
| Länge: | einige mm bis zu einigen cm (typischerweise: 20 - 50 mm) |
| Höhe: | einige μm bis zu einigen 100 μm (typischerweise: 50 μm) |

Auf der Oberseite 25 und Unterseite 26 des Kanals 24 sind Mikroelektroden 27a, 27b gegenüberliegend angeordnet, die bei Ansteuerung mit einer Wechselspannung (in der Regel einer Frequenz im MHz-Bereich und einer Amplitude von einigen Volt) quer zum Kanal Feldbarrieren erzeugen, die über negative (bedingt auch positive) Dielektrophorese die Teilchen ablenken (im hier gezeigten Fall die großen Teilchen).

Die Kanalstruktur 24 reicht vom Eingangsdepot 28 zu den geschlossenen Kanalenden 29a, 29b, in die sich der in einem mittleren Abschnitt gerade Kanal verzweigt. Ein erstes Paar der Mikroelektroden 27a, 27b ist unmittelbar am kanalseitigen Ende

des Eingangsdepots 28 zur Ausbildung einer Feldbarriere angeordnet, die schräg in den Kanal hineinragt und die Aufgabe besitzt, die großen Teilchen 21 in den in Draufsicht rechten Teil des Kanals 24 zu drängen. Ein zweites Paar der Mikroelektroden 27a, 27b ist unmittelbar vor der Verzweigung zu den Kanalenden 29a, 29b angeordnet und bildet eine Feldbarriere, die schräg über die Kanalbreite bis in die zum Kanalende 29b führende Abzweigung reicht und dazu vorgesehen ist, die großen Teilchen 21 zu diesem Kanalende hin zu führen.

Ein erfindungsgemäßes Manipulationsverfahren, das bei diesem Beispiel auf eine Trennung der Teilchen gerichtet ist, umfaßt die folgenden Schritte.

Vor der Zentrifugation wird das Mikrosystem mit einer geeigneten Flüssigkeit gefüllt. Dabei ist das Mikrosystem bereits in eine Aufnahme 12 der Zentrifuge (s. Fig. 14) eingebaut. Der Einbau kann aber auch nach der Befüllung des Mikrosystems erfolgen. Kurz vor Beginn der Zentrifugation werden die Elektroden 27a, 27b angesteuert und im Eingangsdepot 28 wird z.B. mit einer Pipettiereinrichtung die Suspension der zu trennenden Teilchen zugegeben. Die Zentrifugeneinrichtung ist zunächst noch im Ruhezustand, d.h. das Mikrosystem ist vertikal oder zur Vertikalen leicht geneigt ausgerichtet. Die Gravitationskraft, die auf die Teilchen wirkt, führt zu einem masseabhängig verschieden schnellen Absinken in die Kanalstruktur (Sedimentation). Die weitere Bewegung der Teilchen hin zu den Kanalenden erfolgt je nach der gewünschten Teilchengeschwindigkeit ausschließlich unter der Wirkung der Gravitationskraft oder unter der gemeinsamen Wirkung der Gravitationskraft und der Zentrifugalkräfte. Die Zentrifugation kann somit als Sedimentation unter der Wirkung einer künstlich erhöhten Fallbeschleunigung aufgefaßt werden. Die sich bewegendenden Teilchen werden durch das elektrische Feld des ersten Paares der Mikroelektroden größenabhängig getrennt.

Die Darstellung in Fig. 15 zeigt die Verhältnisse während der Sedimentation bzw. Zentrifugation. Durch die exakt einstellbaren Zentrifugalkräfte über die Rotationsgeschwindigkeit bewegen sich die Teilchen in den unteren Teil des Mikrosystems. Entsprechend der üblichen Zentrifugationsprinzipien sedimentieren die Teilchen mit der größten Dichte zuerst. Da die Teilchen 21 durch die elektrische Feldbarriere im Kanal nach rechts verschoben werden, während die Teilchen 22 davon unbeeinflusst bleiben, so ergibt sich in den Kanalenden 29a, 29b eine Trennung beider Teilchenarten. Die Teilchen in jedem der Kanalenden ordnen sich zusätzlich wie bei der üblichen Zentrifugation entsprechend ihrer Dichte an. Das dargestellte Mikrosystem kann als Grundform einer erfindungsgemäßen Vorrichtung betrachtet werden, wobei diese Grundform anwendungsabhängig vergrößert, erweitert oder mit weiteren Mikrostrukturen kombiniert werden kann. Der Vorteil besteht darin, daß keine Lösungsströmung entsteht und dennoch die Partikelbewegung gerichtet und einstellbar ist. Derartige Systeme können auch entgegengesetzte Bewegungen erzeugen, wenn die Teilchen einen Auftrieb besitzen.

Ausgehend von der dargestellten Grundform kann ein erfindungsgemäßes Mikrosystem beliebig erweitert werden, wie es an sich von den dielektrophoretischen Mikrosystemen bekannt ist. Demnach kann die Kanalstruktur insbesondere mehrere, über Verzweigungen miteinander verbundene Einzelkanäle aufweisen. Die Kanäle können gerade oder gekrümmt sein. Gekrümmte Kanalformen (z.B. Bögen, Mäander, Biegungen, Winkel usw.) können insbesondere zur Untersuchung von Bindungsunterschieden von Partikeln mit den Kanalwänden verwendet werden.

Gemäß einer weiteren Modifikation kann das Mikrosystem an der Aufnahme 12 (s. Fig. 14) drehbar angebracht sein. Während eines ersten Zentrifugationsvorganges erfolgt in einer ersten Mikrosystemorientierung z.B. eine Teilchentrennung gemäß Fig. 15.

Anschließend wird die Orientierung des Mikrosystems um 180° verändert, so daß die Gravitations- und/oder Zentrifugalkräfte entgegengesetzt der Pfeilrichtung 23 wirken. Die Kanalenden 29a, 29b übernehmen dann die Funktion von Eingangsdepots, von denen bei Vorhandensein geeigneter Kanalstrukturen (zusätzliche seitliche Abzweigungen) eine weitere Verteilung der getrennten Teilchen in Untergruppen oder eine bestimmte Behandlung (Beladen mit Stoffen, Elektroporation u. dgl.) erfolgen kann. Es sind auch in Abhängigkeit von der Kanalstruktur andere Orientierungsänderungen als die genannte 180° -Umkehr möglich. Es besteht ferner die Möglichkeit, die Aufnahme 12 so zu gestalten, daß das Mikrosystem während der Zentrifugation gedreht wird.

Eine weitere Ausführungsform der Erfindung, nämlich ein programmierbares Beladungsmikrosystem für Zellen oder Teilchen ist in Fig. 16 gezeigt. Hier ist der Zentrifugationskanal in drei Teile 31a, 31b, 31c unterteilt. In den Zwischenwänden befinden sich Öffnungen 32, durch die wieder Elektroden 33 auf der Ober- und Unterseite des Kanals hindurchreichen. Die Öffnungen sind der Teilchengröße angepaßt (typischerweise 5- bis 20-fach größer als der Durchmesser). Zu Beginn werden in jeden der Kanalteile 31a bis 31c verschiedene Lösungen eingefüllt, die der chemischen Veränderung oder Beladung der Partikel dienen. Danach werden in einen Kanalteil (hier z.B. 31c) die Teilchen eingefügt. Durch die Zentrifugation gelangen die Teilchen (z.B. zuerst die schwarzen, dann die hellen) an die Elektroden 33 und können so automatisch über die elektrischen Feldbarrieren durch die Öffnungen 32 in die Nachbarlösungen überführt werden.

Auch hier kommt es zu einer Sortierung in den drei Kanalenden 31d, 31e, 31f und gleichzeitig zu einer Anordnung der Teilchen entsprechend der Masseunterschiede.

Weitere Eigenschaften der Mikrosysteme bestehen darin, daß

sie Öffnungen (Zuflüsse, Durchflüsse, Abflüsse) besitzen können, die sich verschließen lassen, so daß die Teilchen nach der Zentrifugation oder davor leicht entnommen oder eingefügt werden können. Ferner können all die Mikroelektrodenelemente (Halteelektroden für Teilchen, Mikrofeldkäfige etc.) eingebaut werden, die für die dielektrophoretische Beeinflussung von Teilchen an sich bekannt sind und bei herkömmlichen Mikrosystemen, die mit strömenden Flüssigkeiten arbeiten, eingesetzt werden. Aufgrund des Zusammenwirkens der Gravitations- bzw. Zentrifugalkräfte mit den dielektrophoretischen Kräften ist das erfindungsgemäße Verfahren eine elektrisch gesteuerte oder aktive Zentrifugation. Zusätzlich können Kombinationen mit der Einwirkung optischer Kräfte (Laser-Tweezer), magnetischer Kräfte (Einwirkung auf magnetische Partikel) oder mechanischer Kräfte in Form von Ultraschallkräften vorgesehen sein.

Anwendungsgebiete der Erfindung sind insbesondere:

Zelltrennung/-fraktionierung, Zellsortierung, Zellbeladung (molekular, Nanoteilchen, Beads), Zellentladung (molekular), Zellpermeation (sog. Elektroporation), Zellfusion (sog. Elektrofusion), Zellpärchenbildung, und Zellaggregatbildung.

Die Erfindung ist nicht auf bestimmte Lösungs- oder Suspensionsflüssigkeiten beschränkt. Es ist vorteilhaft, wenn die Viskosität der im Mikrosystem enthaltenen Flüssigkeit bekannt ist. Bei bekannter Viskosität läßt sich die Drehzahl zur Einstellung einer bestimmten Partikelgeschwindigkeit auf der Grundlage von Tabellenwerten oder durch einen Programmalgorithmus ermitteln. Alternativ ist es jedoch auch möglich, die tatsächliche Geschwindigkeit der Partikel im Mikrosystem während der Zentrifugation zu erfassen (z.B. mit einem optischen Sensor) und die Drehzahl zur Einstellung einer bestimmten Partikelgeschwindigkeit zu regeln. Es kann vorgesehen sein, daß in verschiedenen Teilbereichen des Kanalstrukturen, z.B. in parallel verlaufenden Kanälen, die nur über eine Öffnung miteinander

verbunden sind, Flüssigkeiten mit verschiedenen Viskositäten enthalten sind. In diesem Fall werden jedoch Viskositäten bevorzugt, bei denen sichergestellt ist, daß die Diffusion der Flüssigkeiten durch die Öffnung über den Zentrifugationszeitraum verhältnismäßig klein oder vernachlässigbar klein ist.

Falls die Massendichte der Partikel kleiner als die Flüssigkeit im Mikrosystem ist, kann die Erfindung entsprechend abgewandelt implementiert werden, indem Partikel gegebenenfalls auf der der Drehachse abgewandten Seite des Mikrosystems eingebracht werden und unter Wirkung des Auftriebs oder unter kombinierter Wirkung des Auftriebs und der Zentrifugalkräfte zum anderen Ende des Mikrosystems wandern.

Das Mikrosystem wird anwendungsabhängig in Bezug auf die Kanalstruktur und die Ausrichtung der Elektrodeneinrichtungen angepaßt. Die Kanalquerdimensionen sind in der Regel wesentlich größer als die Durchmesser der einzelnen Partikel. Dadurch wird vorteilhafterweise ein Verstopfen der Kanäle vermieden. Sind lediglich Partikel mit besonders geringen Dimensionen zu manipulieren (z.B. Bakterien oder Viren oder Zellorganellen), so können die Kanaldimensionen entsprechend verringert werden, z.B. auf Beträge unterhalb 10 μm .

Die Erfindung wird mit einem Mikrosystem implementiert, das mindestens einseitig geschlossen ist. Das geschlossene Ende kann ein geschlossenes Kanalende, eine geschlossene Sammelzone oder auch ein geschlossener Hohlraum im Mikrosystem sein. Bei der erfindungsgemäßen Partikelmanipulation erfolgt im wesentlichen keine Flüssigkeitsbewegung hin zu dem geschlossenen Ende. Dies bedeutet, insbesondere bei Realisierung von Sammelzonen oder Hohlräumen am geschlossenen Ende, daß diese wie das gesamte Mikrosystem zu Beginn der Partikelmanipulation mit der Lösung oder Suspension für die Teilchen gefüllt ist.

Falls es beim Manipulieren der Partikel zu Zusammenballungen oder vorübergehenden Verstopfungen der Kanalstrukturen kommt, so ist erfindungsgemäß vorgesehen, die Drehzahl der Zentrifuge kurzzeitig zu erhöhen, um so die zusammenhaftenden Partikel abzulösen und weiter zu bewegen.

PATENTANSPRÜCHE

1. Elektrodenanordnung in einem Mikrosystem, das zur dielektrophoretischen Manipulierung von Teilchen in einer Suspensionsflüssigkeit in einem Kanal eingerichtet ist, wobei mindestens eine Mikroelektrode auf einer seitlichen Wand des Kanals zur Erzeugung einer Feldbarriere entlang einer Bezugsfläche angeordnet ist, die den Kanal zumindest teilweise durchsetzt,

dadurch gekennzeichnet, daß

die Mikroelektrode eine vorbestimmte Krümmung oder vorbestimmte Winkel in Bezug auf die Strömungsrichtung im Kanal besitzt, so daß die Bezugsfläche eine vorbestimmte Krümmung relativ zur Strömungsrichtung besitzt.

2. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 1, bei der die Elektrodenanordnung mindestens zwei an gegenüberliegenden Kanalwänden angebrachte Mikroelektroden gleicher Gestalt und Ausrichtung umfaßt, die jeweils die Form eines gekrümmten Bandes besitzen.

3. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 2, bei der die Mikroelektroden in Abhängigkeit vom Strömungsprofil so gekrümmt sind, daß in jedem Abschnitt der Feldbarriere der Mikroelektrode die auf ein Teilchen wirkende resultierende Kraft in einen Bereich weist, der stromaufwärts in Bezug auf die Mikroelektrode gelegen ist.

4. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 3, bei der vier Mikroelektroden als Fokussierelektroden zur Bildung eines Partikeltrichters angeordnet sind.

5. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 2, bei der die Mikroelektroden so gekrümmt sind, daß die auf ein Teilchen wirkende

resultierende Kraft von einem Ende der Mikroelektrode hin zum anderen Ende eine Richtungsänderung durchläuft, die von einer Richtung in einen in Bezug auf die Mikroelektrode stromabwärts gelegenen Bereich zu einer Richtung in einen in Bezug auf die Mikroelektrode stromaufwärts gelegenen Bereich führt.

6. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 5, bei der zwei Mikroelektroden als Sortierelektroden vorgesehen sind, deren Feldbarriere mit dem Strömungsprofil der Suspensionsflüssigkeit im Kanal so zusammenwirkt, daß suspendierte Teilchen mit verschiedenen passiven elektrischen Eigenschaften die Sortierelektroden je nach ihren Eigenschaften auf getrennten Bahnen passieren können.

7. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 2, bei der an gegenüberliegenden Kanalwänden mindestens zwei Mikroelektroden gleicher Gestalt und Ausrichtung vorgesehen sind, die jeweils einen stromabwärts geschlossenen Winkelabschnitt aufweisen.

8. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 7, bei der die Mikroelektroden als Fangelektroden zusammenwirken.

9. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 7 oder 8, bei der eine Gruppe von Fangelektroden in Kanalquerrichtung angeordnet sind.

10. Elektrodenanordnung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei der die Mikroelektroden paarweise jeweils auf den Boden- und Deckflächen des Kanals angeordnet sind.

11. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 1, bei der zwei Mikroelektroden an gegenüberliegenden Kanalwänden vorgesehen sind, die verschiedene geometrische Formen besitzen.

12. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 11, bei der der Kanal eine rechteckige Querschnittsgestalt besitzt und die Mikroelektroden an den schmaleren Seitenflächen angebracht sind und eine flächige Mikroelektrode auf einer Seitenfläche und eine bandförmige Mikroelektrode auf der gegenüberliegenden Seitenfläche umfassen.

13. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 12, bei der die flächige Mikroelektrode erdfrei angeordnet ist.

14. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 12 oder 13, bei der der Kanal durch eine Trennwand in zwei Teilkanäle getrennt ist, wobei die Trennwand im Bereich der gegenüberliegend angeordneten Mikroelektroden eine Öffnung aufweist.

15. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 1, bei der drei Mikroelektroden vorgesehen sind, von denen zwei Mikroelektroden als Fokussierelektroden an den Boden- und Deckflächen des Kanals angebracht und eine dritte Mikroelektrode als Hilfselektrode mit Abstand von den Boden- und Deckflächen in der Mitte des Kanals angeordnet ist.

16. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 15, bei der der Kanal durch eine Trennwand in zwei Teilkanäle mit einer Öffnung stromaufwärts in Bezug auf die Hilfselektrode geteilt ist.

17. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 1, bei der an einer Kanalwand eine quaderförmige Sammelelektrode mit einer Vielzahl von Reservoirien angeordnet ist, die mit einer Ablenkelektrode auf der gegenüberliegenden Kanalwand zur Ablenkung von Teilchen in die Reservoirie zusammenwirkt.

18. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 1, bei der an einer Kanalwand eine Vielzahl von quaderförmigen, voneinander beabstandeten Teilelektroden vorgesehen sind, die mit einer auf

der gegenüberliegenden Kanalwand angeordneten Ablenkelektrode zur Ablenkung von Teilchen in die Abstände zwischen den quaderförmigen Teilelektroden eingerichtet ist.

19. Mikrosystem, das mit einer Elektrodenanordnung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche ausgestattet ist.

20. Verwendung einer Elektrodenanordnung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 18 zum Ablenken, Sortieren, Sammeln und/oder Formieren von mikroskopisch kleinen Teilchen.

21. Verfahren zur Manipulation von Partikeln in einem fluidischen Mikrosystem (15, 24, 31), bei dem die Partikel (21, 22) in einer Suspensionsflüssigkeit in einer vorbestimmten Bezugsrichtung bewegt werden,

dadurch gekennzeichnet, daß

das Mikrosystem (15, 24, 31) mindestens an seinem in der Bezugsrichtung liegenden Ende (17a, 17b, 29a, 29b, 31d, 31e, 31f) verschlossen wird,

die Partikel sich mit einer durch vorbestimmte Zentrifugal- und/oder Gravitationskräfte eingestellten Geschwindigkeit in der in Bezug auf das Mikrosystem (15, 24, 31) ruhenden Suspensionsflüssigkeit bewegen, wobei die Zentrifugal- und/oder Gravitationskräfte im wesentlichen parallel zu der Bezugsrichtung verlaufen, und

die Partikel im Mikrosystem (15, 24, 31) Ablenkkraften ausgesetzt werden, deren Richtung von der Bezugsrichtung abweicht.

22. Verfahren gemäß Anspruch 21, bei dem das Mikrosystem (15, 24, 31) an einer Schwingrotorzentrifugeneinrichtung angebracht ist, wobei die Partikelbewegung bei Stillstand der Schwingrotorzentrifugeneinrichtung als Sedimentation unter Wirkung der Gravitationskraft und bei Betrieb der Schwingrotorzentrifugeneinrichtung unter Wirkung der Zentrifugalkräfte erfolgt.

23. Verfahren gemäß Anspruch 22, bei dem die Ablenkkräfte elektrische Polarisationskräfte, optische Kräfte, magnetische Kräfte oder Ultraschallkräfte umfassen.

24. Verfahren gemäß Anspruch 23, bei dem die Drehzahl der Schwingrotorzentrifugeneinrichtung so eingestellt ist, daß die auf die Partikel wirkenden Zentrifugalkräfte kleiner oder gleich als die Ablenkkräfte sind.

25. Verfahren gemäß Anspruch 23, bei dem die Drehzahl der Schwingrotorzentrifugeneinrichtung so eingestellt ist, daß sich die Partikel so langsam bewegen, daß unter Wirkung der Ablenkkräfte eine Ablenkung der Partikel aus der Bezugsrichtung erfolgt.

26. Verfahren gemäß Anspruch 23, bei dem die Drehzahl der Schwingrotorzentrifugeneinrichtung in Abhängigkeit von der mit einem optischen oder elektrischen Sensor erfaßten Geschwindigkeit der Partikel geregelt wird.

27. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem mehrere Partikelbewegungen unter Wirkung der Zentrifugalkräfte in getrennten Zentrifugationsschritten erfolgen, wobei zwischen den Zentrifugationsschritten eine Verstellung des Mikrosystems zur veränderten Ausrichtung in Bezug auf die Zentrifugalkräfte erfolgt.

28. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die Drehzahl der Schwingrotorzentrifugeneinrichtung in Abhängigkeit von der Größe oder Dichte der Partikel gewählt wird.

29. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem sich die Partikel unter Wirkung von Auftriebskräften ent-

gegengesetzt zur Richtung der Zentrifugal- und/oder Gravitationskräfte bewegen.

30. Mikrosystem (15, 24, 31) mit mindestens einem Kanal, der von einem Eingangsdepot (16, 28) zu Kanalenden (17a, 17b, 29a, 29b, 31d, 31e, 31f) verläuft,

dadurch gekennzeichnet, daß

das Mikrosystem (15, 24, 31) zur Anbringung am Rotor einer Zentrifuge derart eingerichtet ist, daß beim Zentrifugenbetrieb die Zentrifugalkräfte, die auf Partikel im Kanal wirken, im wesentlichen parallel zur Kanalausrichtung verlaufen, und die Kanalenden (17a, 17b, 29a, 29b, 31d, 31e, 31f) geschlossen oder während des Zentrifugenbetriebs verschließbar sind.

31. Mikrosystem gemäß Anspruch 30, das eine Mikroelektroden-einrichtung aufweist, die Mikroelektroden zur Erzeugung von Felddbarrieren im Mikrosystem umfaßt.

32. Mikrosystem gemäß Anspruch 31, bei dem die Mikroelektroden an gegenüberliegenden Längsseiten des Kanals angeordnet und zur Beaufschlagung mit einer hochfrequenten Wechselspannung eingerichtet sind.

33. Mikrosystem gemäß Anspruch 32, bei dem die Mikroelektroden bandförmige Elektroden sind, die sich schräg zur Kanalausrichtung erstrecken und zur Erzeugung von Felddbarrieren im Kanal eingerichtet sind.

34. Mikrosystem gemäß einem der Ansprüche 30 bis 33, das am Rotor der Zentrifuge verschwenkbar angebracht ist.

35. Mikrosystem gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche 30 bis 33, bei dem eine elektronische Steuerung des Mikrosystems am Rotor der Zentrifuge angebracht ist.

36. Verwendung eines Verfahrens oder einer Vorrichtung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche zur Trennung, Fraktionierung, Sortierung, Beladung, Entladung, Permeation, Fusion, Pärchenbildung und/oder Aggregatbildung synthetischer Teilchen und/oder biologischer Partikel.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

2/14

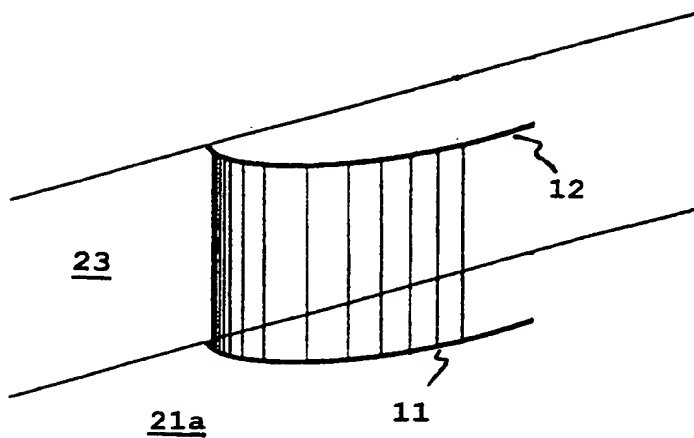


Fig. 1b

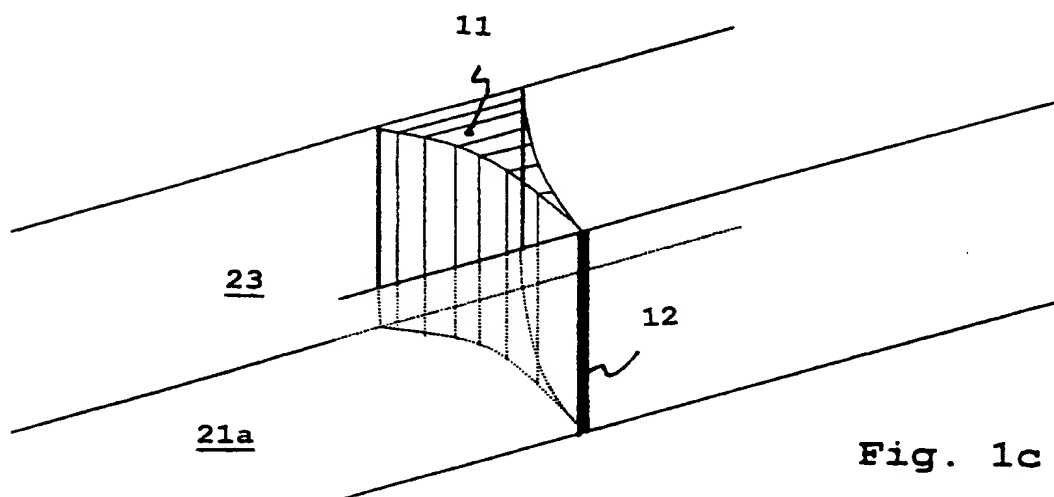


Fig. 1c

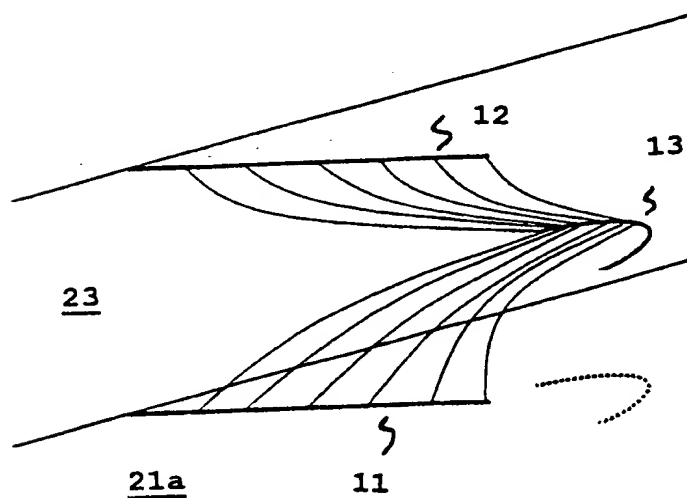


Fig. 1d

THIS PAGE BLANK (USPTO)

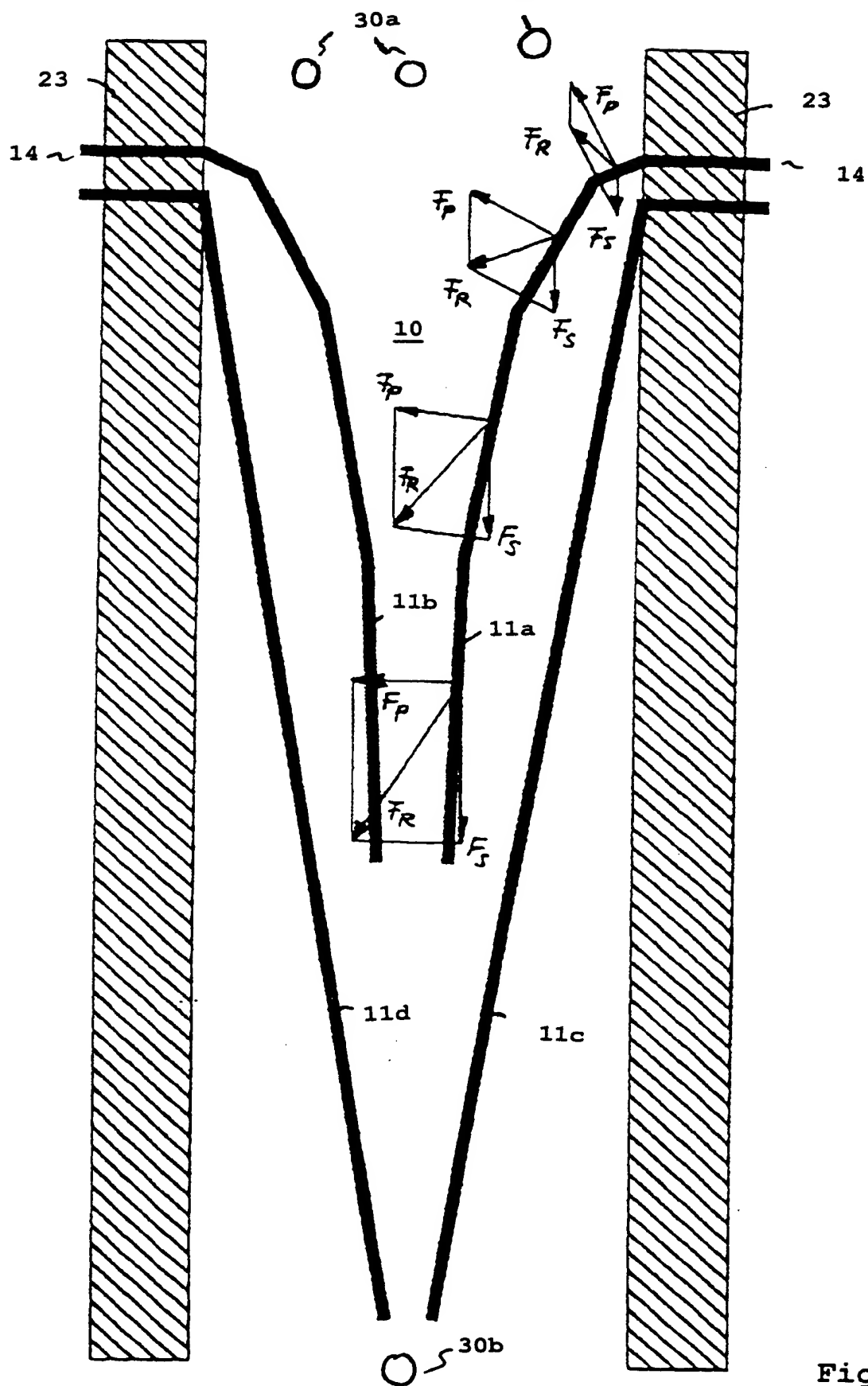
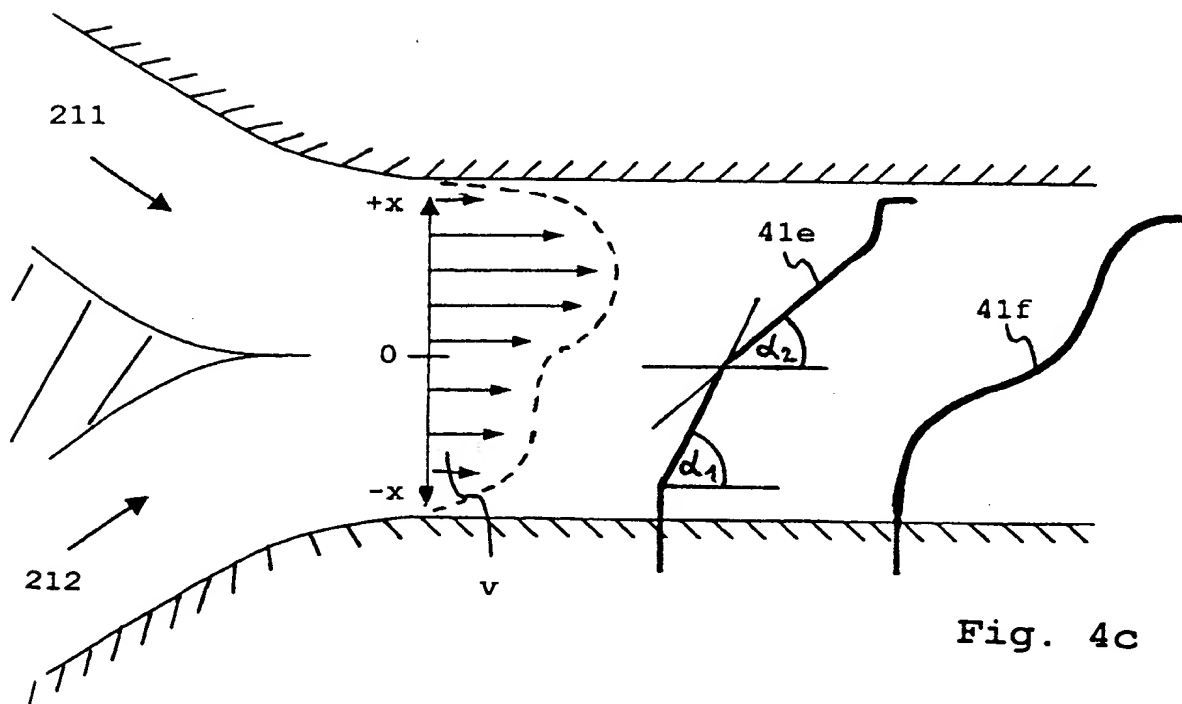
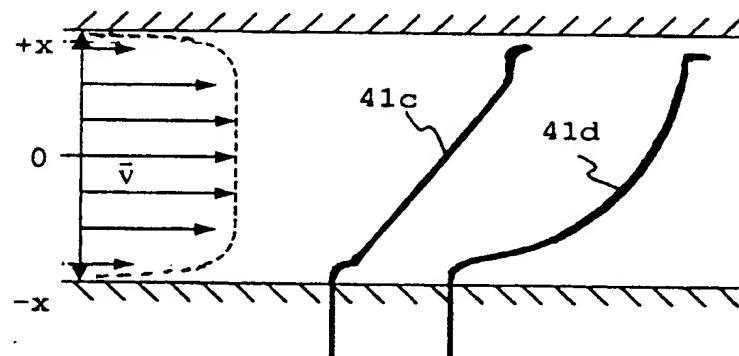
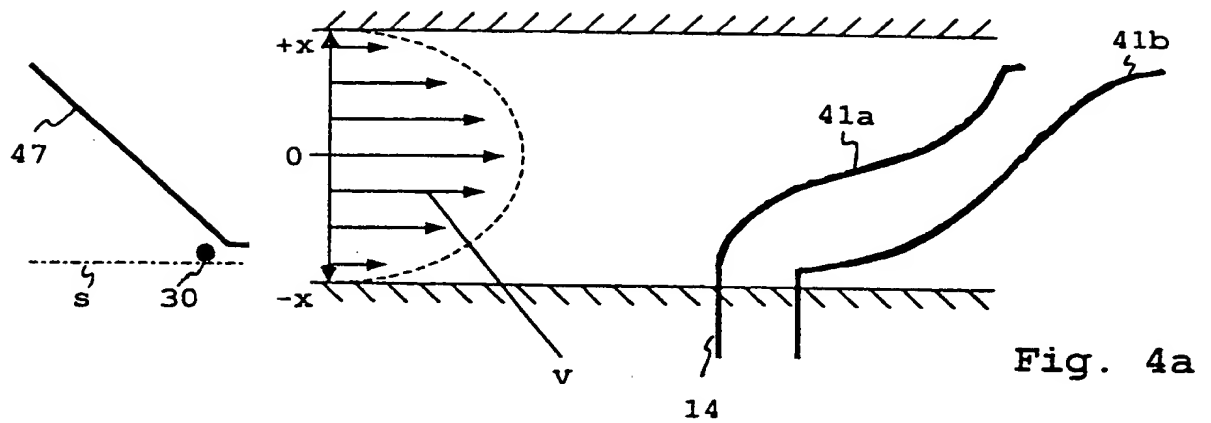


Fig. 2

THIS PAGE BLANK (USPTO)



THIS PAGE BLANK (USPTO)

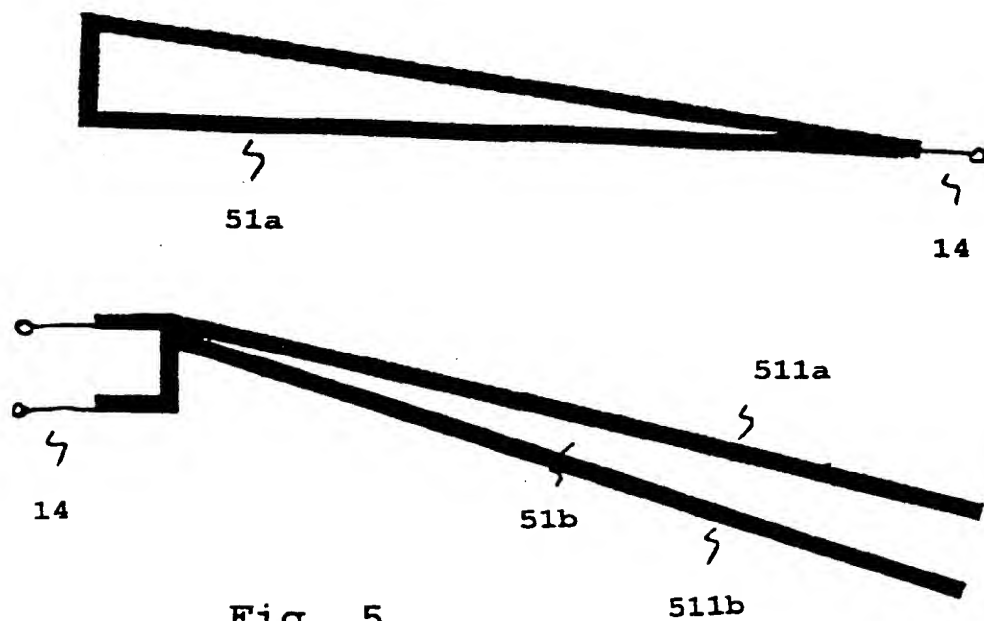


Fig. 5

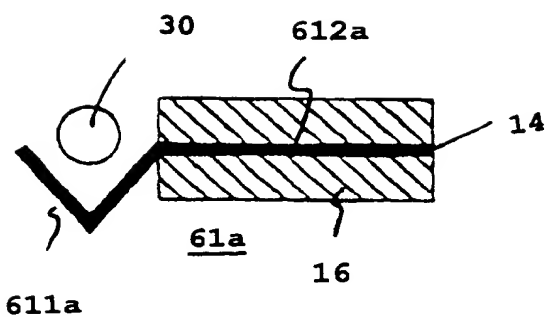


Fig. 6a

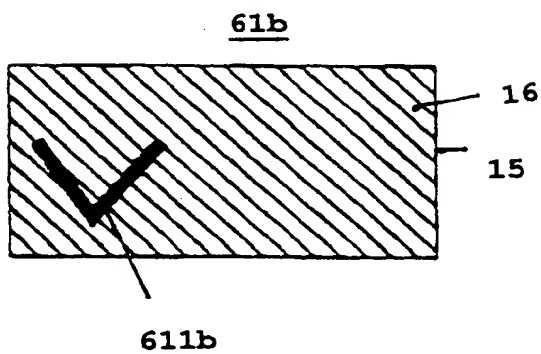


Fig. 6b

THIS PAGE BLANK (USPTO)

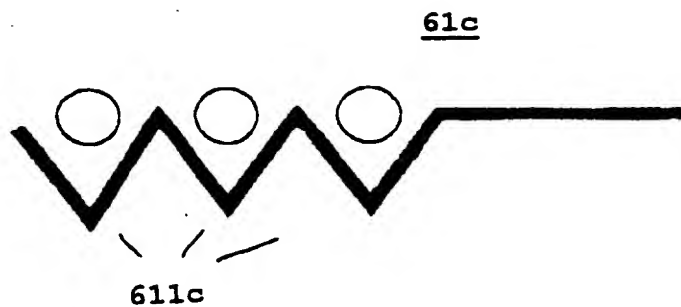
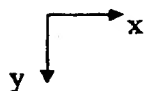


Fig. 6c

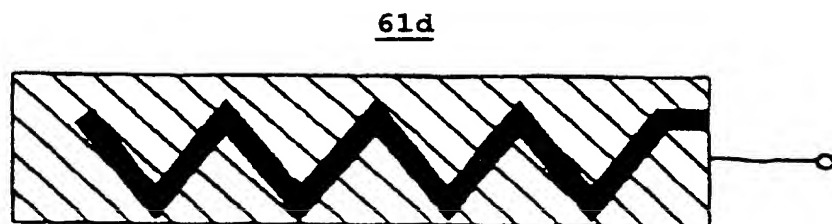


Fig. 6d



Fig. 6e

THIS PAGE BLANK (USPTO)

7/14

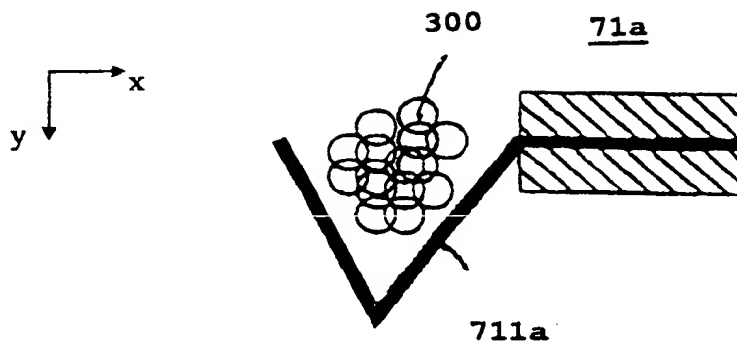


Fig. 7a

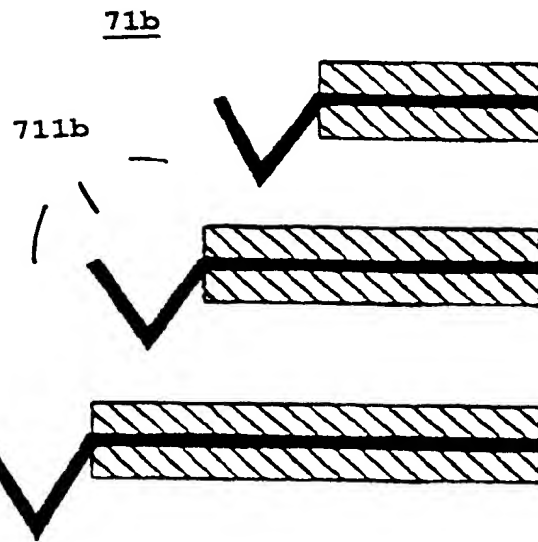


Fig. 7b

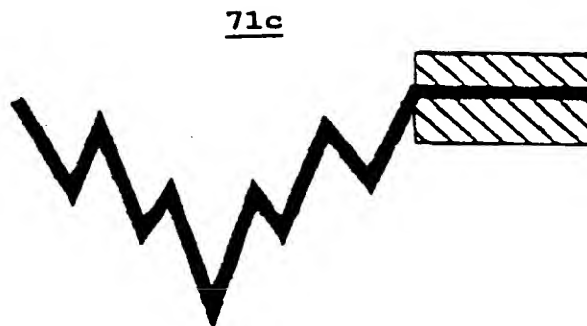


Fig. 7c

THIS PAGE BLANK (USPTO)

8/14

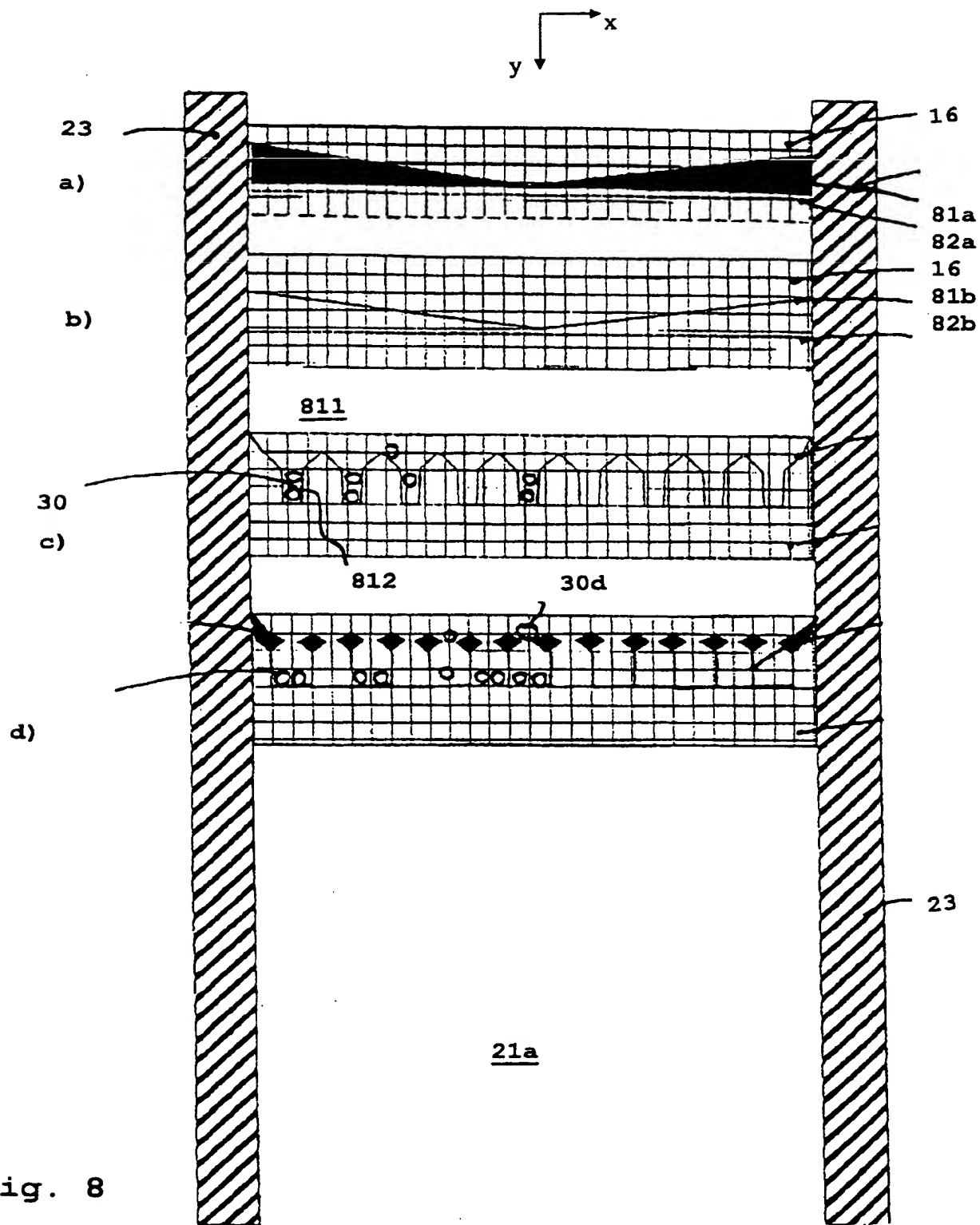


Fig. 8

THIS PAGE BLANK (USPTO)

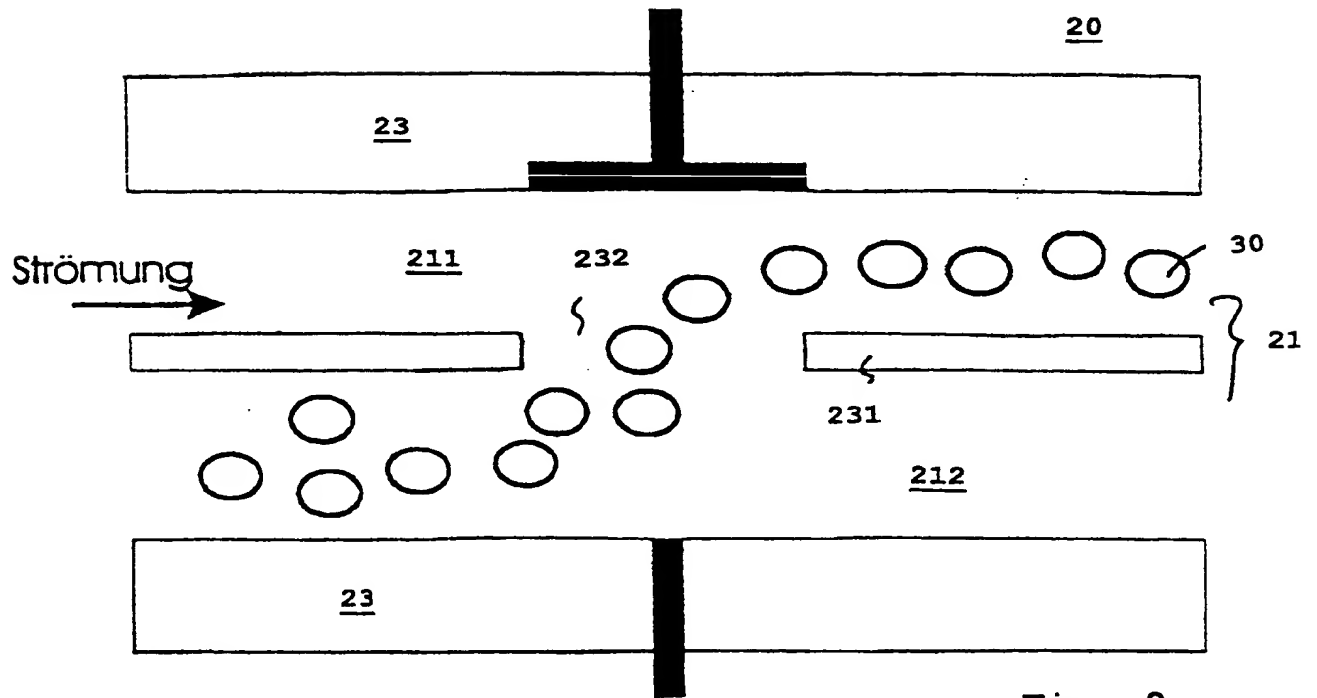


Fig. 9

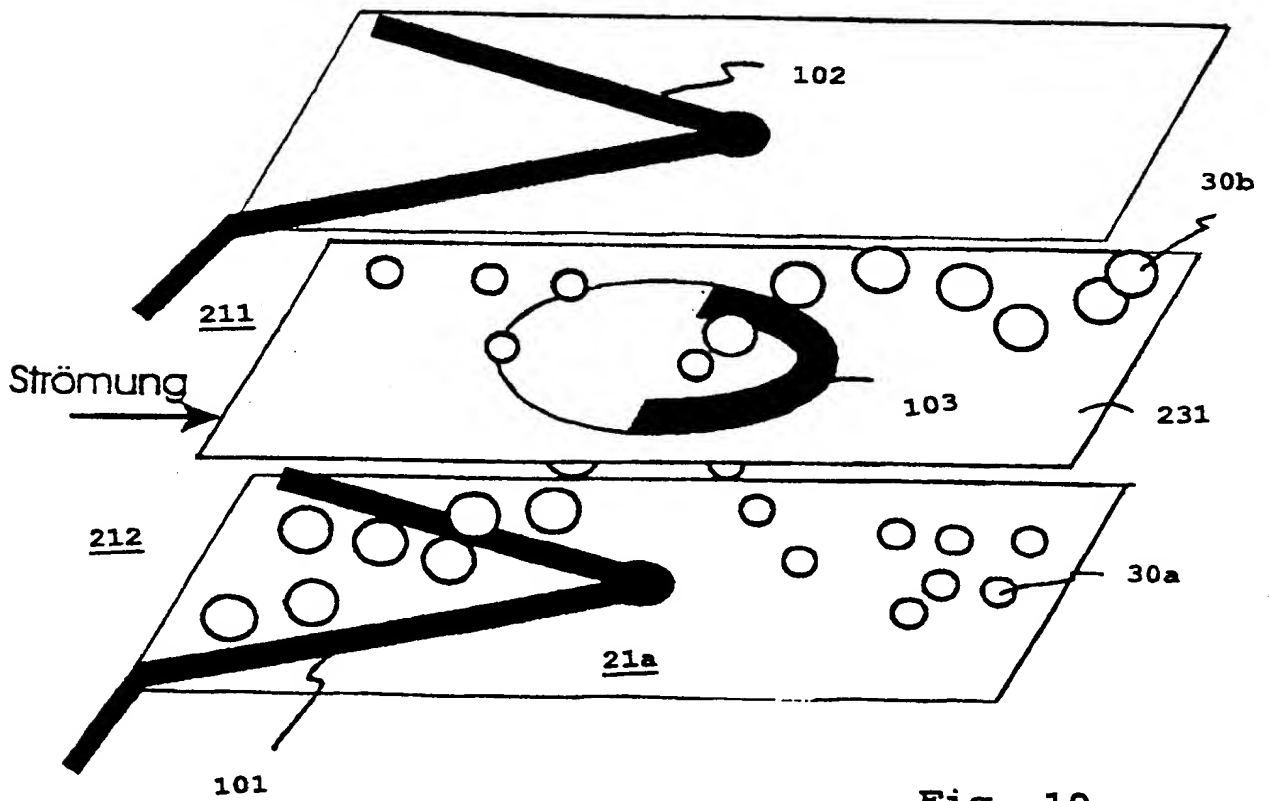


Fig. 10

THIS PAGE BLANK (USPTO)

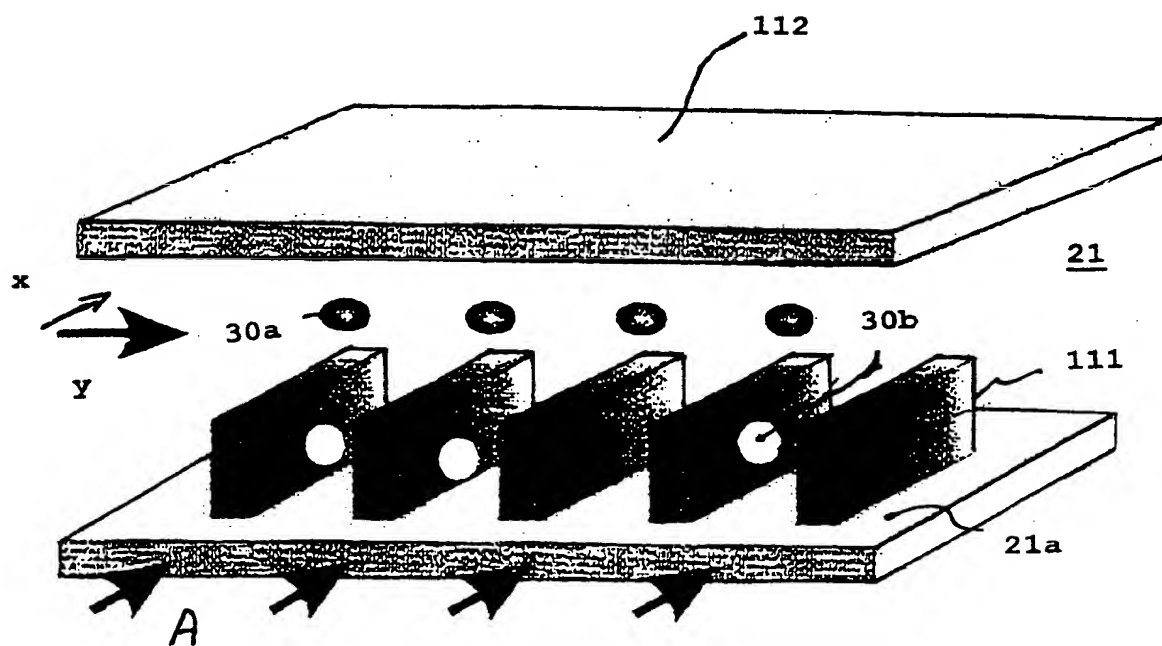


Fig. 11

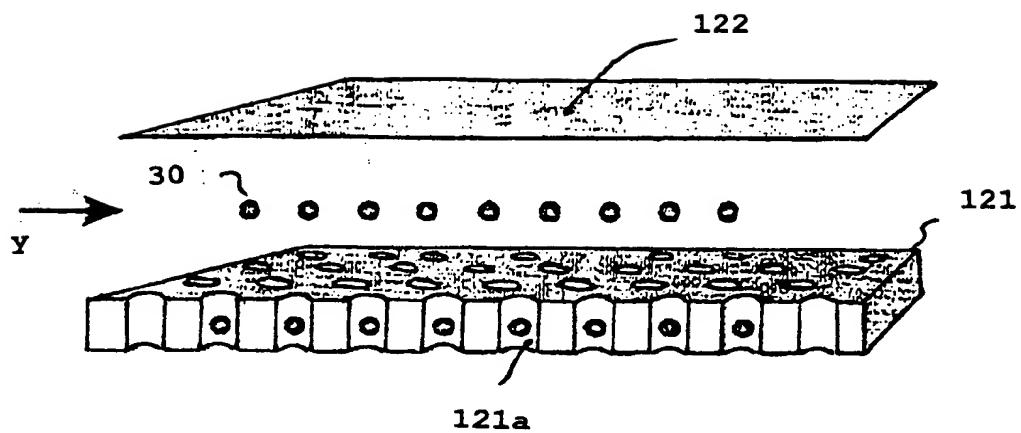


Fig. 12

THIS PAGE BLANK (USPTO)

11/14

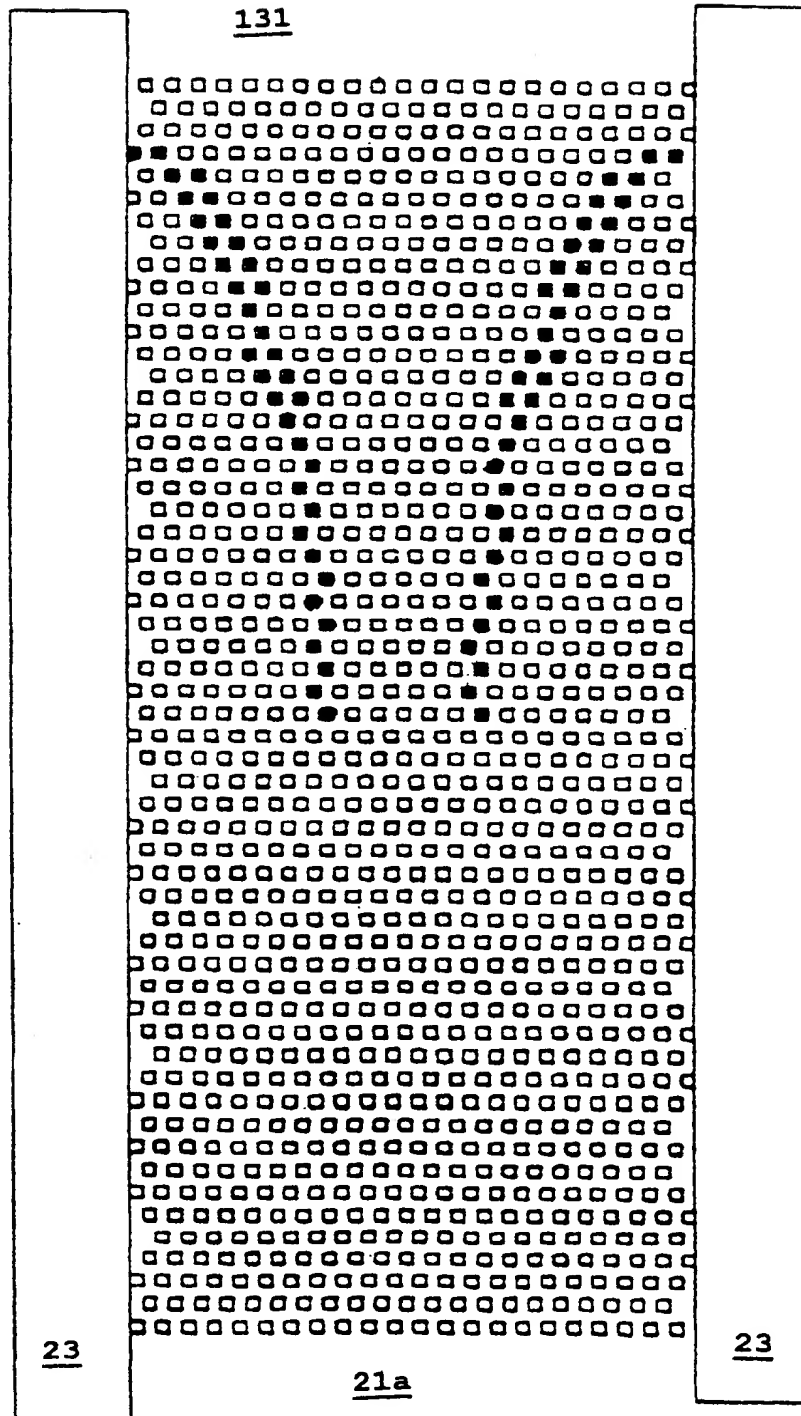
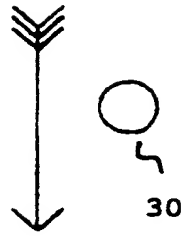


Fig. 13

THIS PAGE BLANK (USPTO)

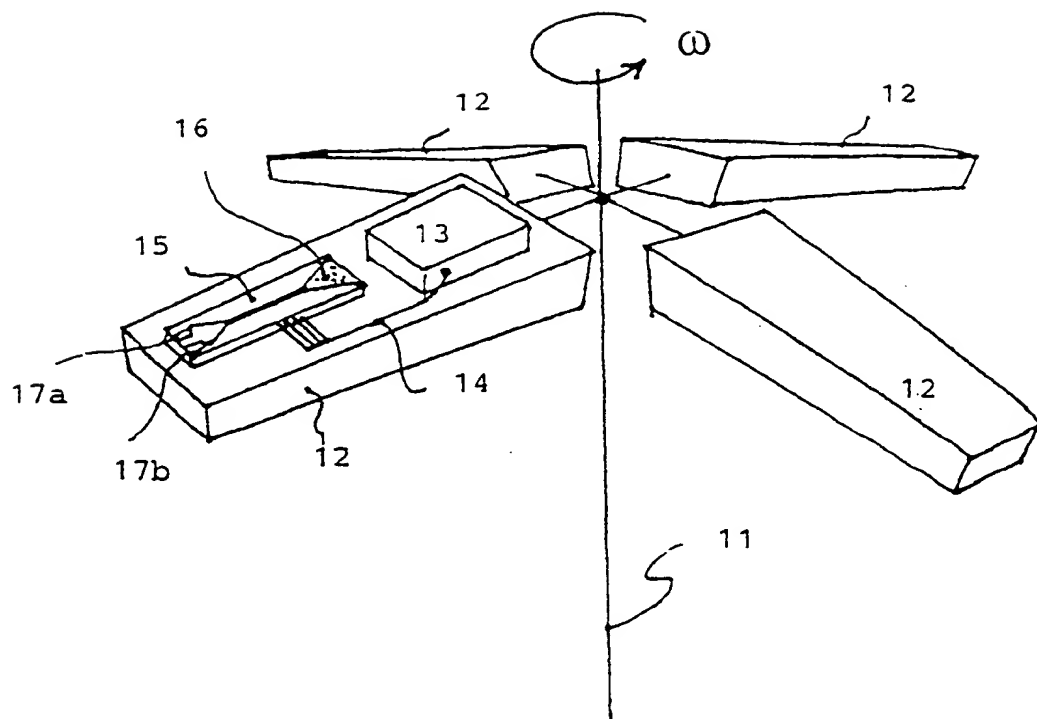


Fig. 14

THIS PAGE BLANK (USPTO)

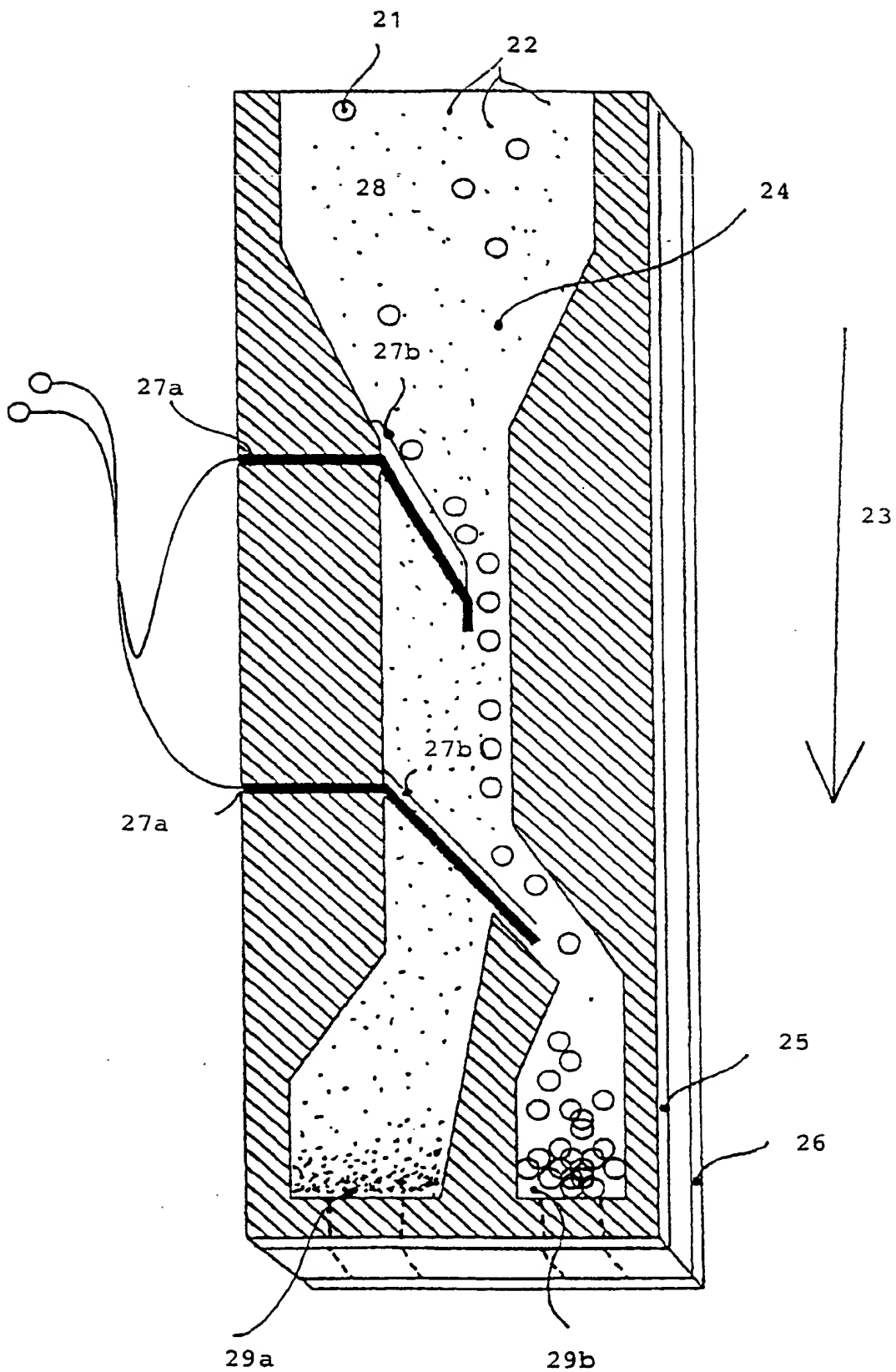


Fig. 15

ERSATZBLATT (REGEL 26)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

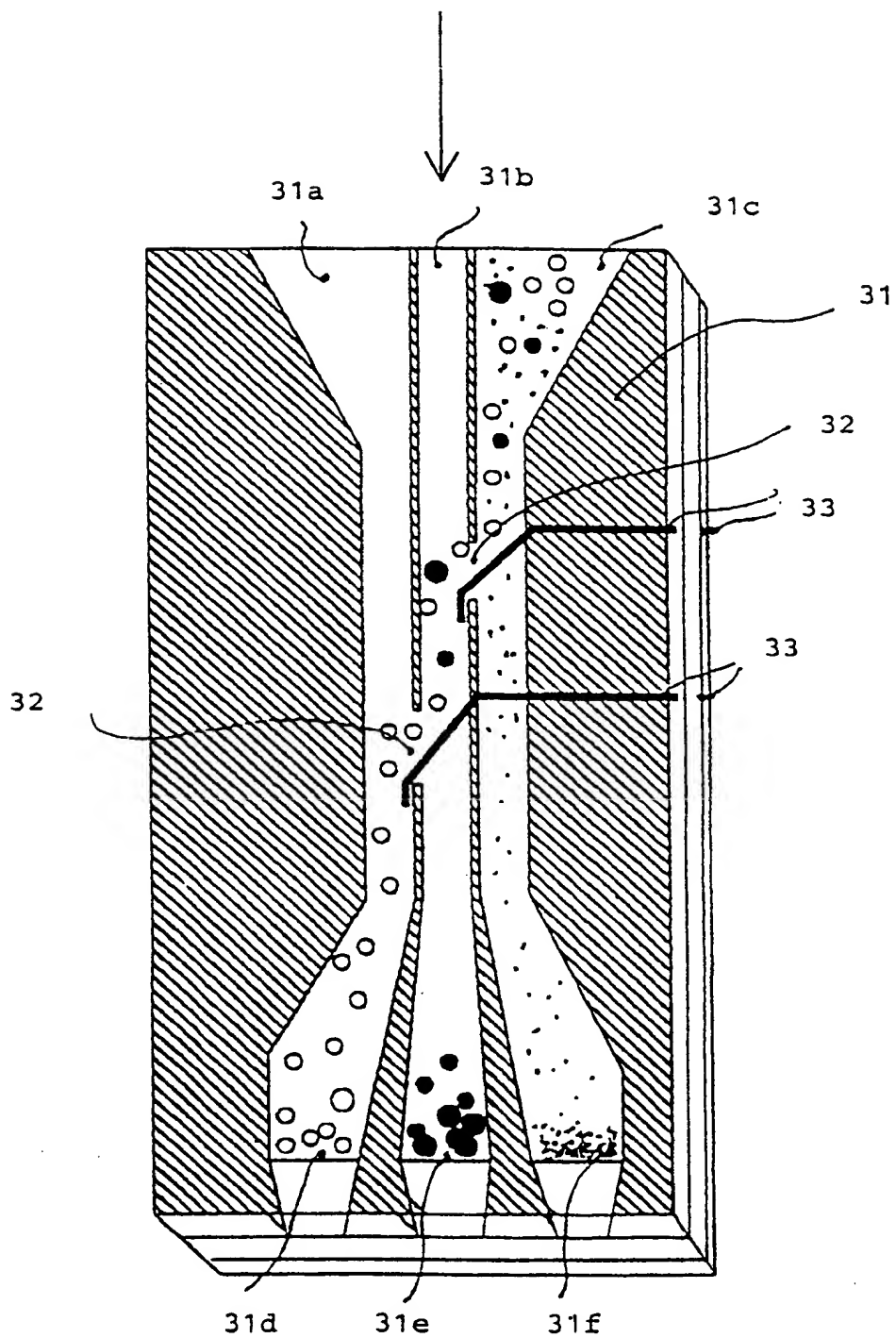


Fig. 16

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

| | | |
|--|---|---|
| Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 14839/PCT Ri | WEITERES VORGEHEN | siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5 |
| Internationales Aktenzeichen PCT/EP 99/ 04470 | Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 28/06/1999 | (Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 26/06/1998 |
| Anmelder EVOTEC BIOSYSTEMS AG et al. | | |

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. 1a

☒ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☐ keine der Abb.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 99/04470

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 6 B03C5/02 G01N15/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 B03C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category ° | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| X | FIEDLER S ET AL: "DIELECTROPHORETIC SORTING OF PARTICLES AND CELLS IN A MICROSYSTEM" ANALYTICAL CHEMISTRY, vol. 70, no. 9, 1 May 1998 (1998-05-01), pages 1909-1915, XP000755524 ISSN: 0003-2700 | 1,20 |
| A | page 1909, column 1, paragraph 1 | |
| | page 1910, column 1, paragraph 1; figure 2 | 2-9 |
| A | EP 0 645 169 A (AJDARI ARMAND ;LEWINER JACQUES (FR); PROST JACQUES (FR); VIOVY JEA) 29 March 1995 (1995-03-29) column 4, line 49 -column 5, line 16; claims 1,10; figure 1 | 1,20 |
| | --- -/-- | |



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 September 1999

Date of mailing of the international search report

07/10/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Decanniere, L

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 99/04470

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|--|---------------------------|
| A | DE 195 00 660 A (FUHR GUENTER PROF DR ;VOIGT ANDREAS DR (DE)) 13 June 1996 (1996-06-13) column 2, line 56 - line 60; figure 2 ---- | 1,2,4,7, 8,13,20 |
| X | US 4 726 904 A (AYERS WILLIAM M) 23 February 1988 (1988-02-23) | 21,30 |
| A | column 8, line 40 -column 10, line 38; claims 1,4-7; figures 1,2 ----- | 22-24, 26,31, 32,36 |
| X | US 5 565 105 A (THAKOR NITISH V) 15 October 1996 (1996-10-15) | 21,30 |
| A | column 1, line 23 - line 40 column 4, line 49 -column 6, line 44; claims 1-5; figure 2 ----- | 22,23,36 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/04470

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| EP 0645169 A | 29-03-1995 | FR 2710279 A | 31-03-1995 |
| | | DE 69404405 D | 04-09-1997 |
| | | DE 69404405 T | 05-02-1998 |
| | | US 5593565 A | 14-01-1997 |
| DE 19500660 A | 13-06-1996 | NONE | |
| US 4726904 A | 23-02-1988 | NONE | |
| US 5565105 A | 15-10-1996 | NONE | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 B03C5/02 G01N15/04

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 B03C

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|--------------------|
| X | FIEDLER S ET AL: "DIELECTROPHORETIC SORTING OF PARTICLES AND CELLS IN A MICROSYSTEM" ANALYTICAL CHEMISTRY, Bd. 70, Nr. 9, 1. Mai 1998 (1998-05-01), Seiten 1909-1915, XP000755524 ISSN: 0003-2700 | 1,20 |
| A | Seite 1909, Spalte 1, Absatz 1 Seite 1910, Spalte 1, Absatz 1; Abbildung 2 | 2-9 |
| A | EP 0 645 169 A (AJDARI ARMAND ; LEWINER JACQUES (FR); PROST JACQUES (FR); VIOVY JEA) 29. März 1995 (1995-03-29) Spalte 4, Zeile 49 - Spalte 5, Zeile 16; Ansprüche 1,10; Abbildung 1 | 1,20 |
| | ---- | |
| | -/-- | |

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

30. September 1999

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

07/10/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Decanniere, L

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|---------------------------|
| A | DE 195 00 660 A (FUHR GUENTER PROF DR ;VOIGT ANDREAS DR (DE)) 13. Juni 1996 (1996-06-13) Spalte 2, Zeile 56 - Zeile 60; Abbildung 2 --- | 1,2,4,7, 8,13,20 |
| X | US 4 726 904 A (AYERS WILLIAM M) 23. Februar 1988 (1988-02-23) | 21,30 |
| A | Spalte 8, Zeile 40 - Spalte 10, Zeile 38; Ansprüche 1,4-7; Abbildungen 1,2 --- | 22-24, 26,31, 32,36 |
| X | US 5 565 105 A (THAKOR NITISH V) 15. Oktober 1996 (1996-10-15) | 21,30 |
| A | Spalte 1, Zeile 23 - Zeile 40 Spalte 4, Zeile 49 - Spalte 6, Zeile 44; Ansprüche 1-5; Abbildung 2 ----- | 22,23,36 |

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/04470

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | Datum der Veröffentlichung |
|--|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| EP 0645169 A | 29-03-1995 | FR 2710279 A | 31-03-1995 |
| | | DE 69404405 D | 04-09-1997 |
| | | DE 69404405 T | 05-02-1998 |
| | | US 5593565 A | 14-01-1997 |
| DE 19500660 A | 13-06-1996 | KEINE | |
| US 4726904 A | 23-02-1988 | KEINE | |
| US 5565105 A | 15-10-1996 | KEINE | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)